



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

A QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA E OS SEUS EFEITOS NO PARASITISMO
GASTROINTESTINAL DO CÃO

JOÃO MIGUEL PRÓSPERO DOS SANTOS LORY COSTA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutor José Augusto Farraia e Silva
Meireles

ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

COORDINADORA

Dra. Patrícia Jorge Lopes

2018

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

A QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA E OS SEUS EFEITOS NO PARASITISMO
GASTROINTESTINAL DO CÃO

JOÃO MIGUEL PRÓSPERO DOS SANTOS LORY COSTA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

ORIENTADOR

Doutor José Henrique Duarte Correia

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

COORIENTADORA

Doutor José Augusto Farraia e Silva
Meireles

Dra. Patrícia Jorge Lopes

2018

LISBOA

A Chemist Looks at Parasitology

Parasitology! Parasitology!
One part of science to two of mythology,
Oodles of doodles that you will insist
Are micro-sized monsters that just can't exist,
Papers replete with long names in italics
Describing in jargon the fanciful anties
Of creatures who live on the fat of the land
In host after host without lifting a hand,
Parasitology! Queen of biology!
One part of science to two of mythology.
Don't you owe nature a humble apology?

Dr. A.E.R. Westman, 1972, Canada

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho, por todo o apoio nesta jornada parasitológica, pela amizade demonstrada nos últimos anos, por uma porta sempre aberta, pela boa disposição e bons conselhos no decorrer desta dissertação.

À minha coorientadora, Dra. Patrícia Lopes, por me ter permitido realizar este projeto, pelo constante interesse demonstrado, pela motivação incondicional, pelo conhecimento oncológico, e não só, adquirido durante o estágio.

À Dra. Ana Eiras, pelo porto de abrigo no HVR, pela particular preocupação na minha preparação durante o estágio. Ao Dr. Gonçalo Vicente, por ter permitido acompanhá-lo no HEV, pela confiança que depositou em mim nesse tempo, pelo companheirismo.

Às equipas do HVR e HEV (médicos, enfermeiros, auxiliares, estagiários) por me terem feito sentir em casa no último ano, por me deixarem mais preparado, física e psicologicamente, para o que aí vem, por todo o apoio. Ao Dr. Hugo Lucas, pela atitude sempre entusiasta.

Ao pessoal do Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias, Dra. Lídia Gomes, Doutora Ana Margarida Alho e Doutor David Ramilo, pelos conselhos infundáveis, pela orientação no trabalho de laboratório, pelo interesse demonstrado. Às minhas colegas de laboratório, Catarina e Susana, pela companhia nas horas de trabalho, pelo apoio.

Ao Professor Doutor Telmo Nunes, pela ajuda na estatística, pelas conversas e conselhos.

Aos meus pais, pelo exemplo que me dão diariamente, pela paciência, dedicação e suporte, por terem estado sempre presentes e me terem permitido realizar o curso que sempre quis. Aos meus irmãos, pelas inúmeras discussões e soluções, por, sem saberem, puxarem ainda mais por mim. Aos meus avós, maternos e paternos, e à grande família que tenho, por me terem tornado quem sou hoje. Um agradecimento e admiração especiais ao meu avô Manuel, pelo modelo profissional e familiar que representa, por mais de 50 anos de medicina veterinária, pela família íntegra que constituiu, pelo orgulho. À tia Belinha, que acompanhou de perto todos os pequenos e grandes momentos neste percurso.

Aos meus amigos. Marta e Margarida, sempre presentes, pelo apoio incondicional. Aos meus amigos veterinários, a melhor turma que tive no meu percurso académico, que continuemos assim infundavelmente: Adriana Veludo, André Almeida, António Crespo, Catarina Cunha, Francisco Vieira, Joana Simão, Mafalda Ribeiro, Maria Costa, Mariana Mateus, Rita Cameira, Sofia Farinha, Telmo Casimiro, Vanessa Fagundes, Queridas® (Beatriz Almeida, Catarina Silva, Margarida Rocha, Mariana Fonseca, Sara Meireles, Sara Valadares, Salomé Carreira), Açorianos, Ana Florindo, Bárbara Abrantes, Joana Parreira, Vasco Ruivo, Jaime e Raquel, madrinha e afilhados, entre mais.

Por fim, ao meu melhor amigo de quatro patas, que me tem acompanhado nos últimos 15 anos, pela fonte de inspiração, pela amizade eterna, pelo amor, Yoggi Doggy.

Resumo

A quimioterapia antineoplásica e os seus efeitos no parasitismo gastrointestinal do cão

Em medicina veterinária, a crescente incidência de doenças neoplásicas tem sido acompanhada por um aumento da utilização de fármacos quimioterápicos, frequentemente associados a infeções oportunistas.

Os objetivos deste trabalho foram determinar a prevalência de parasitas gastrointestinais em cães submetidos a quimioterapia, bem como a sua evolução, ao longo do protocolo, e efeitos da quimioterapia no estilo de vida dos canídeos.

Foram colhidas amostras coprológicas, num grupo de 30 canídeos (GI), em momentos prévios e durante a realização de quimioterapia, e, num grupo de 45 canídeos (GII), apenas no momento da quimioterapia. No total, foram analisadas 75 amostras através das técnicas de flutuação de Willis, sedimentação natural, técnica de Baermann e esfregaço fecal com coloração de Ziehl-Neelsen. Foram também realizados inquéritos aos tutores para caracterizar o estilo de vida dos cães e os cuidados de desparasitação.

Nos dois grupos, houve duas amostras positivas para o protozoário *Giardia* sp., das quais uma tinha em associação o nematode *Toxascaris leonina*. Os dois animais apenas obtiveram resultados positivos no momento da colheita durante a quimioterapia, tendo apresentado resultados anteriores negativos. Foi, assim, obtida uma prevalência de parasitoses gastrointestinais de 3,3% no GI e 4,4% no GII.

A baixa prevalência parasitária não permitiu avaliar uma associação entre a utilização de compostos antineoplásicos e infeções por parasitas gastrointestinais. Contudo, concluiu-se que a amostra populacional estudada demonstrou estar eficientemente desparasitada, além de não ter sofrido alterações evidentes na sua componente parasitológica e no seu estilo de vida.

Palavras-chave: Parasitas gastrointestinais, Imunodepressão, Quimioterapia, Cães, Área Metropolitana de Lisboa, Portugal.

Abstract

Antineoplastic chemotherapy and its effects on the gastrointestinal parasitism of the dog

In veterinary medicine, an increasing incidence of neoplastic diseases has been followed by a growth in the use of chemotherapeutic drugs, often associated with opportunistic infections. The main goals of this study were to determine the prevalence of gastrointestinal parasites in dogs undergoing chemotherapy, as well as their evolution, throughout the protocol, and effects of chemotherapy on dogs' lifestyle.

Faecal samples were collected in a group of 30 dogs (GI), at previous times and during chemotherapy, and in a group of 45 dogs (GII), at the moment of the chemotherapy only. In total, 75 samples were analyzed by Willis flotation, natural sedimentation, Baermann technique and fecal smear stained with Ziehl-Neelsen. Dogs' tutors also participated in a survey to characterize animal lifestyles and deworming care.

In both groups there were two positive samples for the protozoan *Giardia* sp., one of which had an association with the nematode *Toxascaris leonina*. The two dogs only obtained positive results at the moment of faecal collection during chemotherapy and had presented negative previous results. A prevalence of gastrointestinal parasitoses of 3,3%, in GI, and 4,4%, in GII, was thus obtained.

The low parasite prevalence has not allowed to evaluate an association between the use of antineoplastic compounds and infections by gastrointestinal parasites. However, it was concluded that the studied groups were efficiently dewormed, as well as they did not experience any obvious changes in their parasitological component and its lifestyle.

Keywords: Gastrointestinal parasite, Immunosuppression, Chemotherapy, Dogs, Lisbon Metropolitan Area, Portugal.

Índice Geral

Agradecimentos.....	ii
Resumo	iii
Abstract.....	iv
Índice Geral	v
Lista de figuras	viii
Lista de tabelas.....	viii
Lista de gráficos.....	viii
Lista de abreviaturas e siglas	ix
Lista de unidades e símbolos	x
Introdução.....	1
I – Descrição das Atividades Desenvolvidas durante o Estágio.....	2
1. Hospital Veterinário do Restelo.....	2
2. Hospital Escolar Veterinário da FMV-ULisboa.....	4
3. Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-ULisboa	4
II – Revisão Bibliográfica	5
A. PARASITAS GASTROINTESTINAIS	5
1. Nematodes	5
1.1. Ancilostomatídeos.....	5
1.2. Ascarídeos	8
1.3. <i>Angiostrongylus vasorum</i>	11
2. Cestodes	14
3. Protozoários	18
3.1. <i>Giardia</i> spp.....	18
3.2. <i>Cystoisospora</i> spp.	20
3.3. <i>Cryptosporidium</i> spp.	22
B. TOLERÂNCIA NA RELAÇÃO HOSPEDEIRO-PARASITA.....	24
C. QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA	25
1. Oncologia Veterinária	25
2. Estratégias da quimioterapia	25
2.1. Indicações da quimioterapia	26
2.2. Classes de compostos antineoplásicos e mecanismos de ação	26
2.3. Quimioterapia combinada <i>versus</i> Monoterapia	27

2.4. Quimioterapia convencional: doses, frequência e vias de administração.....	28
2.5. Quimioterapia metronômica	29
2.6. Inibidores da tirosina quinase	30
3. Efeitos secundários dos fármacos quimioterápicos.....	30
3.1. Toxicidade hematopoiética	31
3.2. Toxicidade gastrointestinal.....	32
4. Protocolos quimioterápicos utilizados no HVR e HEV.....	34
4.1. Linfoma	34
4.2. Mastocitoma.....	35
4.3. Sarcomas	36
4.4. Carcinomas	36
4.5. Melanoma oral	37
III – A quimioterapia antineoplásica e os seus efeitos no parasitismo gastrointestinal do cão	38
1. Objetivos	38
2. Material e Métodos.....	39
2.1. Composição da Amostra	39
2.2. Área de estudo	40
2.3. Colheita e processamento das amostras coprológicas	40
2.4. Técnicas laboratoriais.....	41
2.4.1. Exame macroscópico.....	41
2.4.2. Técnicas de Flutuação de Willis e Sedimentação Natural	41
2.4.3. Técnica de Baermann	42
2.4.4. Esfregaço fecal	42
2.5. Inquérito aos tutores	42
2.6. Análise estatística.....	43
3. Resultados	44
3.1. Identificação do animal	44
3.2. Caracterização do estilo de vida do animal	44
3.3. Caracterização da frequência e dos hábitos de passeio	45
3.4. Cuidados veterinários relativos à desparasitação interna e externa	45
3.5. Distribuição das doenças neoplásicas.....	47
3.6. Distribuição dos protocolos de quimioterapia antineoplásica	49

3.7. Caracterização dos sinais clínicos	50
3.8. Leucograma.....	51
3.9. Terapêutica adjuvante: Antibioterapia	52
3.10. Resultados laboratoriais	53
3.10.1. Exame macroscópico das fezes	53
3.10.2. Exame microscópico das fezes	53
3.11. Resultados referentes a cães positivos a parasitas gastrointestinais	55
4. Discussão.....	56
4.1. Identificação dos animais	56
4.2. Estilo de vida dos animais	56
4.3. Frequência e hábitos de passeio.....	56
4.4. Cuidados veterinários relativos à desparasitação interna e externa	57
4.5. Doenças neoplásicas e protocolos de quimioterapia	59
4.6. Sinais clínicos.....	60
4.7. Leucograma.....	60
4.8. Terapêutica adjuvante: Antibioterapia	61
4.9. Prevalência global parasitária	62
4.10. Considerações finais	64
5. Conclusão	67
Bibliografia	68
Anexo 1.....	77
Anexo 2.....	79
Anexo 3.....	80

Lista de figuras

Figura 1 – Ciclo de vida de <i>Giardia</i> spp.	19
Figura 2 – Amostras pertencentes à Área Metropolitana de Lisboa	40
Figura 3 – Ovos de <i>Toxascaris leonina</i>	54
Figura 4 – Quistos de <i>Giardia</i> sp.	54

Lista de tabelas

Tabela 1 – Cestodes que afetam os canídeos e características associadas ao ciclo biológico	15
Tabela 2 – Características morfológicas dos cestodes adultos que afetam canídeos	16
Tabela 3 – Classes de compostos quimioterápicos, mecanismos de ação e exemplos	27
Tabela 4 – Graus de neutropénia, traduzido de VCOG – Veterinary Co-operative Oncology Group (2011).....	32
Tabela 5 – Recomendações para o manejo da neutropénia após quimioterapia, traduzido de Smith (2014)	32
Tabela 6 – Protocolo CHOP – UW-Madison modificado em 25 semanas (UW 25)	35
Tabela 7 – Tabela representativa dos grupos amostrados.....	39
Tabela 8 – Distribuição das frequências de Desparasitação Interna e de Desparasitação Externa no Grupo I.....	46
Tabela 9 – Distribuição das frequências de Desparasitação Interna e de Desparasitação Externa no Grupo II.....	47
Tabela 10 – Distribuição dos sinais clínicos no Grupo I	50
Tabela 11 – Distribuição dos sinais clínicos no Grupo II	51
Tabela 12 – Frequência das citopénias ao longo do protocolo de quimioterapia no Grupo I	51
Tabela 13 – Frequência das citopénias ao longo do protocolo de quimioterapia no Grupo II	52
Tabela 14 – Distribuição dos parasitas gastrointestinais nos grupos de doentes oncológicos estudados	54
Tabela 15 – Dados recolhidos referentes aos cães com análise coprológica parasitária positiva.....	55

Lista de gráficos

Gráfico 1 – Distribuição das doenças neoplásicas no Grupo I	48
Gráfico 2 – Distribuição das doenças neoplásicas no Grupo II	48
Gráfico 3 – Distribuição dos protocolos de quimioterapia antineoplásica no Grupo I.....	49
Gráfico 4 – Distribuição dos protocolos de quimioterapia antineoplásica no Grupo II.....	49

Lista de abreviaturas e siglas

5-HT₃	Recetores de serotonina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AINEs	Anti-inflamatórios não esteróides
AML	Área Metropolitana de Lisboa
BID	<i>Bis in die</i> (duas vezes por dia)
CAPC	<i>Companion Animal Parasite Control</i>
cELISA	ELISA para pesquisa de coproantígenos
CHOP	Protocolo de quimioterapia para linfoma que inclui ciclofosfamida, doxorrubicina, vincristina e prednisolona
c-Kit	Recetores de tirosina-quinase
COP	Protocolo de quimioterapia para linfoma que inclui ciclofosfamida, vincristina e prednisolona
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
CRTZ	<i>Chemoreceptor Trigger Zone</i>
DE	Desparasitação Externa
DI	Desparasitação Interna
DMT	Dose Máxima Tolerada
e.g.	<i>exempli gratia</i>
ECG	Eletrocardiograma
ELISA	<i>Enzyme-linked immunoabsorbent assay</i>
ESCCAP	<i>European Scientific Counsel Companion Animal Parasites</i>
etc.	<i>et cetera</i>
EUA	Estados Unidos da América
GI	Grupo I: 30 doentes oncológicos com duas colheitas realizadas em tempos distintos (antes e durante a quimioterapia)
Gla	Grupo I: com 30 doentes oncológicos no momento da colheita pré-quimioterapia
Glb	Grupo I: com 30 doentes oncológicos no momento da colheita durante a quimioterapia
GII	Grupo II: 30 doentes oncológicos no momento da colheita durante a quimioterapia + 15 doentes oncológicos no momento da colheita durante a quimioterapia sem colheita prévia
HD	Hospedeiro Definitivo
HEV	Hospital Escolar Veterinário
HI	Hospedeiro Intermediário
HP	Hospedeiro Paraténico
HVR	Hospital Veterinário do Restelo
IBD	<i>Inflammatory Bowel Disease</i>
IC	Intervalo entre colheitas
ID	Intestino Delgado
IFD	Imunofluorescência Direta
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E

IM	Intramuscular
IV	Intravenosa
L1, L2, L3, L4, L5	Larva de estádios um, dois, três, quatro ou cinco
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LPDP	Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
NK₁	Recetor da substância P
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PO	<i>Per os</i> (via oral)
PPP	Período Pré-Patente
SC	Subcutâneo
SID	<i>Semel In Die</i> (uma vez por dia)
SNC	Sistema nervoso central
sp.	Uma espécie
spp.	Várias espécies
Syn	<i>Synonym</i> (sinónimo)
TC	Tomografia computadorizada
UL	Universidade de Lisboa
ZnSO₄	Sulfato de Zinco

Lista de unidades e símbolos

µm	Micrómetro
cm	Centímetro
g	Grama
kg	Quilograma
m	Metro
m²	Metro quadrado
mg	Miligramma
ml	Mililitro
mm	Milímetro
NA	Número de Amostra
n	Tamanho da amostra
µg	Micrograma
%	Percentagem
&	E
=	Igual
®	Marca registada
°C	Grau Celsius

Introdução

Na sociedade contemporânea, a relação entre o Homem e o cão, como animal de companhia, tem-se tornado cada vez mais forte, sendo o cão frequentemente considerado como um elemento integrante do núcleo familiar. Apesar dos avanços no tratamento e profilaxia de doenças parasitárias, os parasitas podem causar elevados índices de morbilidade e mortalidade no cão, bem como implicações na saúde pública, atendendo ao potencial zoonótico de algumas espécies (Bowman, 2014). Entre os grupos de canídeos mais afetados estão animais jovens, geriátricos e/ou imunocomprometidos (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn & Jennings, 1996). Neste último grupo, inserem-se cães com doença oncológica em processo de quimioterapia.

Diversos estudos realizados em medicina humana (citados ao longo da presente dissertação) indicam que a utilização de compostos antineoplásicos, em protocolos quimioterápicos, pode apresentar efeitos potentes sobre o sistema imunitário de possíveis hospedeiros, contribuindo para um aumento do risco de desenvolvimento de infeções oportunistas, entre as quais, endoparasitoses gastrointestinais. Nesse sentido, pelo facto de não haver ainda estudos semelhantes em medicina veterinária e na sequência do estágio curricular no Hospital Veterinário do Restelo (HVR), surgiu o tema da presente dissertação.

A contribuição para o estudo da prevalência de parasitas gastrointestinais em cães a realizar quimioterapia, além da caracterização de fatores de risco de infeção associados, estão entre os objetivos deste estudo. Deste modo, pretende-se determinar a etiologia de possíveis infeções oportunistas neste grupo específico de canídeos, particularmente infeções parasitárias, bem como aprofundar o conhecimento relativamente à sua manifestação clínica, diagnóstico, tratamento e prevenção, tendo, como fim, um manejo clínico mais adequado destes pacientes.

A presente dissertação divide-se em três partes: a parte I, relativa às atividades desenvolvidas durante o estágio, no qual foi realizada a colheita e análise das amostras coprológicas; a parte II, relativa à revisão bibliográfica, na qual são abordados os parasitas gastrointestinais do cão mais expectáveis de se encontrar no presente estudo, a sua relação com o hospedeiro e generalidades atuais da quimioterapia em Portugal; e a parte III, na qual é descrito e discutido o estudo prático desta dissertação.

I – Descrição das Atividades Desenvolvidas durante o Estágio

O estágio foi dividido em três fases: estágio curricular no Hospital Veterinário do Restelo (HVR), acompanhamento no serviço de oncologia do Hospital Escolar Veterinário (HEV) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL) e realização do trabalho laboratorial no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias (LPDP) da FMV-UL.

1. Hospital Veterinário do Restelo (HVR)

O estágio curricular teve lugar no Hospital Veterinário do Restelo, sob mentoria do Dr. Hugo Lucas, no período decorrido entre setembro de 2016 e abril de 2017. A escolha do local de estágio curricular final deveu-se a um estágio extracurricular prévio, no HVR, no período decorrido entre março e julho de 2015.

O estágio foi realizado na área de Medicina Interna e Cirurgia de Animais de Companhia e foi composto por períodos de duas semanas, nos quais o estagiário acompanhava médicos veterinários diferentes, durante o seu horário integral. O horário era rotativo, com turnos de 8,12 ou 16 horas diárias, perfazendo uma média de 40 horas semanais. Foram realizados turnos diurnos, noturnos, fins de semana e feriados, totalizando, no final do estágio curricular, 1200 horas de trabalho. Este sistema permitiu ao estagiário passar por várias especialidades médicas que incluíram medicina interna, novos animais de companhia, cirurgia e ortopedia, internamento, imagiologia, oftalmologia, dermatologia, neurologia, cardiologia e oncologia.

Ao longo do estágio, foi possível assistir e participar em consultas de medicina interna e de especialidade, ajudar em diversas cirurgias, efetuar diferentes técnicas imagiológicas, integrar a equipa de internamento e realizar diferentes técnicas de laboratório e análises clínicas.

A nível das consultas, foi possível assistir a consultas de primeira e segunda opinião, de referência, de seguimento, de profilaxia (essencialmente, vacinação e *check-up*) e emergências médicas. Diversas competências foram adquiridas como obtenção de anamnese, contenção de animais, realização de exame físico, obtenção de amostras biológicas (sangue, urina, fezes ou pelos), cateterização intravenosa, preparação e administração de diversos fármacos (via oral, subcutânea, intramuscular ou intravenosa), cálculo e administração de fluidoterapia, limpeza de feridas, realização de pensos e realização de necrópsias parciais. No final de cada consulta, sempre que possível, eram discutidos os casos presentes, abrangendo a lista de problemas, possíveis diagnósticos diferenciais, plano de diagnóstico, exames complementares e terapêutica implementada. Nas áreas de especialidade foi possível a realização de exames oftalmológicos e neurológicos completos, a realização de citologias auriculares, tricogramas e raspagens cutâneas na área da dermatologia, a realização de eletrocardiogramas (ECG) bem como a contenção e implementação de terapêutica em animais exóticos, incluindo manobras de emergência. Na especialidade associada ao tema da presente dissertação, oncologia, houve oportunidade de

realizar PAAF, como meio de diagnóstico, além de acompanhar e participar em diversas sessões de quimioterapia realizadas por via intravenosa.

Na área de cirurgia, foram adquiridas competências relativas à preparação pré-cirúrgica dos animais, incluindo cálculo e administração de medicação pré-anestésica, indução de anestesia, intubação endotraqueal e assepsia cirúrgica. Na maioria das cirurgias, o estagiário foi ajudante de cirurgião, tendo assistido a cirurgias de diversos tipos: cirurgia de tecidos moles (orquiectomia, ovariectomia, mastectomia, cesariana, exérese de neoplasias, colocação de bypass uretral subcutâneo, ablação do ducto auditivo, colocação de drenos, etc.); cirurgia ortopédica (reseção da cabeça do fêmur, resolução de fraturas ósseas, hemilaminectomia, etc.); e cirurgia odontológica (destarização e extração dentária). Foi permitido ao estagiário a realização de suturas intradérmicas, destarização com polimento, a realização de pensos pós-cirúrgicos e o acompanhamento do animal até à sua estabilização, em internamento.

Na área da imagiologia, foi possível realizar inúmeras radiografias, incluindo para controlo oficial da displasia da anca e radiografias com contraste. Houve oportunidade de acompanhar diversas tomografias computadorizadas (TC) bem como de acompanhar e realizar colheitas, com posterior processamento, de líquido cefalorraquidiano (LCR). Com particular interesse na ultrassonografia, foram observadas inúmeras ecografias abdominais e ecocardiografias. Neste âmbito, foi possível praticar as duas técnicas referidas, além da realização de cistocenteses e punções ecoguiadas. O auxílio foi também possível em rinoscopias e endoscopias digestivas altas e baixas, com realização de biópsias e remoção de corpos estranhos.

A nível do internamento, este está dividido em quatro secções no HVR: internamento de cães, de gatos, de animais exóticos e de animais com doença infecciosa. O internamento demonstrou-se particularmente estimulante sendo uma área onde a discussão de casos clínicos era imperativa. Foram também realizadas diversas atividades como exame físico, cálculo, preparação e administração de medicação e fluidoterapia, medições de glicémia, pressão arterial ou de lactato, colheita de sangue para análise, cateterização, oxigenoterapia, regulação da temperatura corporal, transfusões sanguíneas, realização de drenagens, nomeadamente uma drenagem pleural, acompanhamento de técnicas como diálise peritoneal e hemodiálise e, ainda, o auxílio na preparação de altas. Nos turnos noturnos, acrescentavam-se consultas de urgência (cetoacidose diabética, convulsões, edema pulmonar, derrame abdominal, etc.) e cirurgias de urgência (torção gástrica, obstrução intestinal, traumatismo, etc.).

Relativamente ao serviço de laboratório e análises clínicas do HVR foi possível a realização e interpretação de hemogramas, provas bioquímicas sanguíneas, microhematócrito e *i-stat*, a realização de testes rápidos de diagnóstico (FIV/FelV, Parvovirose, Leishmaniose, Dirofilariose, Snap cPL, tipificação sanguínea, etc.), de provas de coagulação e urianálise, incluindo culturas bacterianas, a realização e observação de esfregaços sanguíneos e citologias, bem como a preparação e envio de amostras para análise em laboratórios externos.

Durante o estágio foram proporcionadas diversas formações aos estagiários, pelos médicos veterinários residentes, incidindo sobre diversos temas: eletrocardiograma, exame oftalmológico, exame neurológico, gestão e orientação clínica em consulta, displasia da anca e sinfiodese púbica, doença renal crónica, comportamento animal, conceitos básicos de oncologia, monitorização anestésica, urgências, fluidoterapia e vacinação.

Os estagiários foram ainda avaliados, quinzenalmente, pelo médico veterinário que acompanhavam, em diversos pontos, nomeadamente, assiduidade, pontualidade, interesse, disponibilidade e nível de conhecimento. Para além disso, foram realizadas, pelos estagiários, diversas apresentações de casos clínicos relevantes, observados durante o estágio curricular, com posterior discussão. Foi ainda realizada uma avaliação teórica sobre eletrocardiograma.

2. Hospital Escolar Veterinário da FMV-ULisboa

Terminado o estágio curricular, foi realizado um acompanhamento do serviço de oncologia do HEV da FMV-ULisboa, sob orientação do Dr. Gonçalo Vicente, com o objetivo de adquirir uma amostra de maiores dimensões, para a presente dissertação, além de amplificar o conhecimento na área da oncologia. O acompanhamento decorreu entre abril e setembro de 2017 e correspondeu a duas manhãs ou tardes semanais, totalizando cerca de 156 horas de trabalho. Neste período, foi possível o acompanhamento e participação ativa na quimioterapia intravenosa realizada nos presentes canídeos, com experiencição de abordagens diferentes, dos dois hospitais, a casos semelhantes, como a administração de carboplatina intravesical, no HEV, através de algaliação, no tratamento quimioterápico de carcinoma de células de transição. A pesagem dos animais, cateterização, realização de hemogramas e discussão com o clínico sobre medidas a adotar, o cálculo das doses dos fármacos quimioterápicos a administrar, bem como a sua preparação, foram outras atividades desenvolvidas neste período. Este acompanhamento revelou-se também de extrema importância para o estagiário relativamente ao desenvolvimento e evolução de capacidades comunicativas com os tutores e de trabalho em equipa.

3. Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-ULisboa

O trabalho prático laboratorial da presente dissertação foi desenvolvido sob orientação do Prof. Doutor Luís Madeira de Carvalho durante o curso dos estágios anteriores tendo correspondido a um período de 10 meses, entre novembro de 2016 e setembro de 2017. Foram analisadas 75 amostras coprológicas tendo sido submetidas a quatro diferentes técnicas de diagnóstico: flutuação de Willis, sedimentação natural, técnica de Baermann e esfregaço fecal com coloração de Ziehl-Neelsen. Numa perspetiva de consolidação de conhecimentos e ambientação no LPDP, já tinha sido realizado um estágio extracurricular, no período de fevereiro a maio de 2016.

Os resultados desta investigação foram ainda apresentados sob a forma de *poster* científico no 8º Encontro de Formação OMV, realizado nos dias 14 e 15 de abril de 2018 (Anexo 3).

II – Revisão Bibliográfica

A. PARASITAS GASTROINTESTINAIS

1. Nematodes

1.1. Ancilostomatídeos

Os ancilostomídeos adultos são pequenos nematodes do intestino delgado que se fixam através das suas peças bucais, em ângulo com o resto do verme, sendo também conhecidos por “vermes em forma de gancho” (*European Scientific Counsel Companion Animal Parasites* [ESCCAP], 2017b).

As espécies de Ancilostomatídeos que parasitam o cão pertencem à família Ancylostomatidae e subfamília Ancylostomatinae (Bowman, 2014). Dentro desta subfamília, existem duas espécies de particular importância na Europa que parasitam o cão: *Ancylostoma caninum* e *Uncinaria stenocephala* (ESCCAP, 2017b).

Distribuição

Ancylostoma caninum tem distribuição mundial sendo encontrado, predominantemente, em zonas tropicais e zonas temperadas quentes, correspondentes à zona centro e sul da Europa. *Uncinaria stenocephala* tolera climas mais frios e é mais frequentemente encontrada na zona norte da Europa, sendo, por isso, também conhecida como “Ancilostoma do Norte” (Alho, Seixas, Rafael & Madeira de Carvalho, 2010; ESCCAP, 2017b).

Em Portugal a prevalência de ancilostomatídeos varia bastante, conforme a região e a população. Foi observada uma prevalência de 7% para *U. stenocephala* na região oeste do país (Melo, 2017), 3% para a família Ancylostomatidae no Algarve (Owen, 2017) e 11% em canis em todo o território nacional (Félix, 2015). Em Évora, cães com proprietário obtiveram 7,8% de prevalência de *Ancylostoma* sp. em comparação com cães de canil, com 4,1% (Ferreira, 2011). Já no distrito de Lisboa foram observados, em parques urbanos para cães, valores de 16,5% de amostras fecais infetadas por ancilostomatídeos e 27,8% de amostras a partir do solo (Ferreira *et al.*, 2017). Em Vila Franca de Xira, também pertencente ao distrito de Lisboa, obteve-se uma prevalência de 1,3% para *Ancylostoma* sp. em 80 cães com proprietário (Morgado, 2016).

Ciclo biológico

O ciclo de vida dos ancilostomatídeos pode ser monoxeno ou, menos frequentemente, heteroxeno, quando hospedeiros paraténicos (HP) estão envolvidos. As formas adultas destes nematodes vivem no intestino delgado e libertam ovos nas fezes (Ballweber, 2001).

No caso de *A. caninum*, após excreção das fezes para o ambiente, as larvas L1 eclodem e desenvolvem-se até ao estágio L3 em 4-7 dias, sob condições ótimas de temperatura (25-30°C) e

de humidade (>60-70%), podendo permanecer vivas no ambiente até 1-2 meses (Alho *et al.*, 2010).

Os cães podem ser infetados por via oral, por penetração cutânea ou por ingestão de HP, como roedores, com larvas em hipobiose nos seus tecidos que, após ingestão pelo hospedeiro definitivo (HD), migram para o intestino delgado e se desenvolvem até adultos. A infeção é facilitada em ambientes ao ar livre, como canis (*Companion Animal Parasite Council* [CAPC], 2016d).

Na infeção percutânea, as larvas L3 migram através da circulação sanguínea ou linfática até aos pulmões, onde passam a L4. Posteriormente realizam-se migrações pulmonares até à traqueia e são deglutidas. Já no intestino delgado, evoluem para a forma adulta (Alho *et al.*, 2010). Após fixação na mucosa intestinal, as formas adultas danificam a sua superfície para obtenção de nutrientes através de grandes quantidades de sangue, no caso de *A. caninum*, e proteínas plasmáticas, no caso de *U. stenocephala* (ESCCAP, 2017b). Os adultos podem sobreviver desde 4 a 24 meses no intestino delgado, se o animal não for tratado (CAPC, 2016d).

Na infeção oral, as larvas L3 podem penetrar na mucosa bucal e realizar as migrações pulmonares, anteriormente descritas, ou podem ir diretamente para o intestino delgado, onde realizam duas mudas e se tornam adultos. Uma proporção das L3 que atinge os pulmões pode migrar para os músculos esqueléticos, onde podem permanecer mais de 240 dias em estado latente ou hipobiose, podendo ser reativadas por situações de stress, doenças concomitantes ou administração de corticosteroides. Em fêmeas suscetíveis, a reativação das L3 também pode ser devida à gestação podendo, posteriormente, ocorrer migração para o útero e glândulas mamárias (Urquhart *et al.*, 1996; Alho *et al.*, 2010). A transmissão, por via galactogénia, de cadelas para cachorros, durante as primeiras 3 semanas de lactação, constitui uma importante via de infeção de *A. caninum*. A infeção nos cachorros pode resultar em anemia aguda e morte antes de um possível diagnóstico por exame fecal (CAPC, 2016d; ESCCAP, 2017b).

O período pré-patente (PPP) de *A. caninum* pode variar entre 4 a 5 semanas, se a infeção for percutânea, e de 2 a 3 semanas, se houver ingestão por via oral. As formas adultas de *A. caninum* vivem em média 6 meses e cada fêmea pode produzir até 16000 ovos por dia (Alho *et al.*, 2010).

Relativamente a *U. stenocephala*, a principal via de infeção é a oral; não se verificam migrações pulmonares. A penetração cutânea é possível, mas, geralmente, as larvas não completam o seu desenvolvimento. A infeção por via placentária ou galactogénia é inexistente (Baños, Baños & Pelayos, 1999; Ballwebber, 2001). O PPP varia entre 2 e 4 semanas (CAPC, 2016d).

Ação patogénica

A infeção por ancilostomatídeos tanto pode ser subclínica como fatal, dependendo da carga parasitária, da sua virulência e da resistência do hospedeiro. A infeção por *A. caninum* é a mais patogénica sendo a que causa maior perda de sangue (Bowman, 2014). Os grupos de animais mais suscetíveis à infeção constituem neonatos, adultos imunodeprimidos e/ ou mal nutridos. Os

sinais clínicos mais frequentes são mucosas pálidas e anemia, anorexia, perda de peso, emaciação, pelagem em mau estado, desidratação e fraqueza, além de melena. Associados à migração larvar podem ainda surgir sinais respiratórios e pneumonia; se a infecção for percutânea, dermatites com prurido e formação de pápulas, principalmente na zona interdigital, são frequentes. Animais geriátricos podem apresentar uma redução da resposta imunitária resultando em infecções subclínicas enquanto podem estar a excretar para o meio ambiente (CAPC, 2016d). A infecção por *U. stenocephala* é menos acentuada e pode não resultar em sinais clínicos aparentes (Bowman, 2014).

Morfologia e diagnóstico

O diagnóstico dos ancilostomatídeos é realizado pela identificação dos ovos através da técnica de flutuação. Os ovos são morulados, têm um formato ovoide e contornos finos (Ballweber, 2001). O seu tamanho varia de 55 a 75 µm por 34 a 47 µm nos ovos de *A. caninum* e de 71 a 93 µm por 35 a 58 µm nos ovos de *U. stenocephala* (CAPC, 2016d).

A observação de parasitas adultos é efetuada no exame *post-mortem*. *A. caninum* é predominantemente encontrado a nível do jejuno com um comprimento que pode variar de 1 a 2 cm. No caso de *U. stenocephala*, é encontrada no terço posterior do intestino delgado e os adultos podem ter até 1 cm de comprimento (Ballweber, 2001; Alho *et al.*, 2010). Apesar de, ao microscópio, ambos apresentarem cápsulas bucais de grandes dimensões, diferenciam-se por *A. caninum* conter três pares de dentes afiados na cavidade bucal e *U. stenocephala* conter duas lâminas cortantes, em vez de dentes (CAPC, 2016d).

Tratamento e controlo

Os tratamentos aprovados para infeções por ancilostomatídeos adultos em cães são febendazol, moxidectina e pamoato de pirantel. Em animais gravemente afetados, pode ser associada uma terapêutica de suporte que consiste em fluidoterapia, suplementação de ferro, dieta rica em proteína e, se indicado, transfusões sanguíneas (CAPC, 2016d). Para prevenção da transmissão transmamária, no caso de *A. caninum*, os cachorros devem ser desparasitados com pamoato de pirantel às 2, 4, 6 e 8 semanas de idade. Relativamente às mães, a desparasitação é realizada com febendazol numa dose diária de 50 mg/kg a partir do último terço da gestação até ao dia 14 após o início da lactação. Para as larvas enquistadas nos tecidos somáticos, está recomendada a administração de emodepside e moxidectina e, em menor grau, selamectina e milbemicina oxima (Ballweber, 2001; Alho *et al.*, 2010).

Para controlo no ambiente é aconselhada a desparasitação regular dos animais, eliminação das fezes após defecação em espaços públicos, manutenção do solo limpo e seco em locais com grande densidade populacional e o controlo de possíveis hospedeiros paraténicos. *A. caninum*

pode, ocasionalmente, migrar para o intestino do homem causando uma enterite, com dor abdominal, desconforto e diarreia (CAPC, 2016d).

1.2. Ascarídeos

Os ascarídeos, pertencentes à família Toxocaridae, são os maiores nematodes intestinais que parasitam os cães, nomeadamente as espécies *Toxocara canis* e *Toxascaris leonina* (Zajac & Conboy, 2012).

T. canis tem como HD cães e raposas, podendo afetar praticamente qualquer mamífero como hospedeiro paraténico, entre os quais, o Homem (Otero, Ferreira, Cruz, Alho & Madeira de Carvalho, 2015). *T. leonina*, para além do cão e da raposa, tem o gato como HD (ESCCAP, 2017b).

Distribuição

Ambos os parasitas têm uma distribuição cosmopolita, apesar de *T. leonina* ser mais frequente em climas mais frios (Bowman, 2014). A prevalência de infetados é maior em cachorros (ESCCAP, 2017b).

Em Portugal, observaram-se prevalências para *Toxocara* spp. de 14% a nível do Algarve (Owen, 2017), 7% na região Oeste (Melo, 2017), 5% em canis de todo o território nacional e 3,45% num canil em Lisboa (Félix, 2015). Em Lisboa, num estudo desenvolvido por Otero *et al.* (2014), os solos de 85,7% de parques infantis (6/7) e 50% dos parques urbanos investigados (6/12) estavam contaminados com ovos de *Toxocara* spp. Em 369 amostras fecais recolhidas em parques caninos, 0,5% estavam parasitadas por *Toxocara* spp. (Ferreira *et al.*, 2017). Já em cães com proprietário, em Vila Franca de Xira, verificou-se uma prevalência de 1,3% (1/80) (Morgado, 2016).

Relativamente a *Toxascaris leonina*, foram obtidas prevalências de 6% em canis de Beja (Braga, 2017), 1% na região oeste do país (Melo, 2017) e 1,5% em canis de Portugal (Félix, 2015). Em Lisboa, 1,1% das amostras fecais de parques caninos estavam parasitadas com *T. leonina* (Ferreira *et al.*, 2017).

Ciclo biológico

O ciclo de vida pode ser monoxeno ou heteroxeno. Os cães adultos infetam-se por ingestão de ovos embrionados ou por consumo de HP, com larvas enquistadas nos seus tecidos. No caso de *Toxocara canis*, os cachorros neonatos podem infetar-se também por via transplacentária ou transmamária (Bowman, 2014).

O PPP de *Toxocara canis*, nos cães adultos, compreende 32 a 39 dias, quando se verifica ingestão de ovos embrionados, e 2 semanas, se houver ingestão de HP (CAPC, 2016a; ESCCAP, 2017b). Nesta última via de infeção, as larvas não migram e deslocam-se diretamente para o

intestino delgado do HD para se tornarem adultas. Já noutras vias de infeção, a migração larvar é complexa (CAPC, 2016a).

Após ingestão dos ovos embrionados, a larva L3 eclode no estômago e duodeno do HD e migra, através da parede intestinal, sistema porta, fígado, veia cava caudal, coração e artéria pulmonar, até chegar aos capilares pulmonares, 36 horas depois. De seguida, pode penetrar nos alvéolos pulmonares, realizar migração traqueal e ser depois deglutida continuando o seu desenvolvimento para L4, L5 e adulto no intestino delgado. Caso a larva permaneça em circulação, realiza uma migração somática até outros órgãos e tecidos como o fígado, pulmões, cérebro, coração, músculo esquelético e paredes do sistema digestivo, onde acaba por enquistar (Otero *et al.*, 2015).

Em fêmeas gestantes, no último terço da gestação, pode haver reativação das larvas latentes, devido à libertação de hormonas, e seu posterior retorno à circulação sanguínea, onde são transportadas até às placentas ocorrendo migração transplacentária (Otero *et al.*, 2015). Quando esta migração ocorre nos fetos, as larvas permanecem no fígado e pulmões e, só após o parto, é que a migração recomeça. Quando a infeção é transmamária, a eliminação de larvas no leite inicia-se logo após o parto e, neste caso, não ocorre migração larvar, havendo desenvolvimento imediato até ao estágio adulto no intestino dos neonatos (Otero *et al.*, 2015). Durante o período neonatal a imunidade da mãe pode estar comprometida sendo que pode haver um maior número de ovos a ser excretado nas fezes (Peregrine, 2014).

Os ascarídeos adultos produzem, em média, 200 000 ovos, por dia, por cada fêmea de nematode. Após excreção nas fezes, os ovos, não infetantes, acumulam-se no ambiente e, em condições ideais de temperatura, humidade e tensão de oxigénio, maturam em 3 a 6 semanas para se tornarem infetantes, até ao estágio L3 (Otero *et al.*, 2015). Os factos de *Toxocara canis* ser transmitido via transplacentária e de os ovos serem muito resistentes em ambientes contaminados contribui para uma elevada prevalência de infetados, ainda que os cachorros sejam corretamente desparasitados (CAPC, 2016a).

Relativamente a *Toxascaris leonina*, o PPP dura 8 a 10 semanas, após ingestão dos ovos a partir do solo, e é reduzido em 2 semanas, se a via de infeção for por ingestão do HP, frequentemente roedores (Ballweber, 2001; ESCCAP, 2017b). O posterior desenvolvimento larvar ocorre por completo no intestino até à fase adulta, sem migrações extraintestinais. Os ovos são excretados nas fezes sendo que a larva infetante L3 desenvolve-se dentro do ovo num período mais curto, relativamente a *T. canis*, correspondente a uma semana (ESCCAP, 2017b).

Ação patogénica

Os sinais clínicos variam consoante a idade do animal, a carga parasitária, localização e estágio de desenvolvimento dos vermes (Otero *et al.*, 2015).

Relativamente a *Toxocara canis*, o grupo de animais mais gravemente afetados corresponde a cachorros infetados *in utero* que se podem apresentar clinicamente com diarreia, distensão abdominal, atrasos no crescimento e má condição da pelagem (CAPC, 2016a). Uma elevada carga parasitária pode causar obstipação e invaginação. Se houver rotura ou obstrução intestinal, a morte pode ocorrer (Bowman, 2014; ESCCAP, 2017b). A migração larvar pode causar sinais respiratórios como tosse, taquipneia, corrimento nasal e até pneumonia (Otero *et al.*, 2015). O período patente pode ter uma duração de 4 a 6 meses (ESCCAP, 2017b).

Animais infetados com *T. leonina* não apresentam, normalmente, manifestações clínicas. Possíveis sinais clínicos incluem distensão abdominal e diarreia intermitente (Ballweber, 2001).

Morfologia e diagnóstico

No exame *post-mortem* é possível encontrar enterite mucóide, irritação gástrica, cicatrizes intestinais, hemorragias e inflamação pulmonares (CAPC, 2016a).

Já no diagnóstico *in vivo*, existem várias formas de identificação. Os ascarídeos adultos podem ser visíveis através do vômito, sendo indistinguíveis macroscopicamente entre si (CAPC, 2016a). Os adultos têm 10-15 cm de comprimento, uma coloração creme e, quando observados a fresco, podem observar-se os órgãos reprodutivos internos de coloração branca. Morfologicamente, as espécies apresentam na extremidade anterior uma boca, rodeada por três grandes lábios, e uma asa cervical, em forma de lança (Bowman, 2014). São diferenciadas pela presença de um processo digitiforme na ponta da cauda do macho de *T. canis* (Urquhart *et al.*, 1996).

Os ovos podem ser identificados, por exame coprológico, a partir do método de flutuação. Os ovos de *T. canis* têm um formato ovoide, com 85-90 µm por 75 µm de tamanho, contendo um embrião de coloração escura, que se pode encontrar desde a forma não infetante unicelular até larvas L3 infetantes, e uma parede dupla e espessa em que a externa é clara e rugosa (Otero *et al.*, 2015; CAPC, 2016a). Os ovos apresentam ainda uma casca externa que lhes confere grande resistência a ambientes extremos ou a agentes químicos e físicos possibilitando a sua sobrevivência em meio exterior, com capacidade infetante, durante anos (Bowman, 2014; Otero *et al.*, 2015). Os ovos de *T. leonina* têm um formato ovóide, com 75-85 µm ou 60-75 µm de tamanho, e contêm um embrião unicelular de cor clara no seu interior. Este embrião não preenche completamente o interior do ovo e a sua periferia é estriada e não rugosa, ao contrário dos ovos de *T. canis* (Ballweber, 2001).

Também pode ser feito o diagnóstico por deteção de antígenos, permitindo a sua identificação em fases correspondentes ao PPP ou em infeções com apenas um dos sexos representados (CAPC, 2016a).

Tratamento e controlo

O tratamento mais adequado para ascaridiose consiste na administração de anti-helmínticos como mebendazol, febendazol, febantel, pamoato de pirantel, nitroscanato, emodepside, milbemicina oxima, moxidectina e selamectina ou protocolos combinados de praziquantel com febendazol, febantel, pamoato de pirantel ou milbemicina oxima (Alho *et al.* 2010). Estudos sugerem que tratamentos anuais ou semestrais não têm um impacto significativo na prevenção das infeções latentes numa população, sendo que a frequência de tratamento recomendada é de, pelo menos, 4 vezes ao ano (trimestral). Como alternativa aos tratamentos compulsivos, exames coprológicos podem ser realizados, em intervalos de 1 a 3 meses, para decisão terapêutica, caso as análises sejam positivas (ESCCAP, 2017b).

Os cachorros podem-se encontrar gravemente infetados por *Toxocara canis*, mesmo antes de um possível diagnóstico por exame fecal. Por esta razão, devem ser tratados com anti-helmínticos apropriados, a partir das 2 semanas de idade, continuando em intervalos quinzenais até 2 semanas após o desmame, seguido de tratamentos mensais até aos 6 meses de idade. As cadelas gestantes e as mães devem ser tratadas concomitantemente, visto que podem ter infeções latentes (ESCCAP, 2017b).

Remover ovos de ambientes contaminados é difícil, para além do facto de os desinfetantes comuns serem pouco efetivos. Os animais devem circular estritamente à trela e a remoção das suas fezes deve ser rápida, para uma boa prevenção. A desparasitação frequente dos animais é também essencial (CAPC, 2016a). A toxocarose é a zoonose parasitária mais comum dos países desenvolvidos sendo que a infeção pode ocorrer como resultado da ingestão acidental de ovos infetantes ou por ingestão de carne mal cozinhada contendo larvas (Madeira de Carvalho *et al.*, 2005).

1.3. *Angiostrongylus vasorum*

Angiostrongylus vasorum, também conhecido por “verme francês do coração”, é um nematode metastrongilídeo, potencialmente letal, que reside, no estágio adulto, nas artérias pulmonares e no coração direito dos seus HD, que incluem o cão e outros carnívoros silvestres (Alho *et al.*, 2016; ESCCAP, 2017b).

Distribuição

A distribuição de *Angiostrongylus vasorum* inclui países de clima húmido e temperado, tendo como áreas endémicas vários países europeus. As raposas são consideradas importantes hospedeiros reservatórios, além de lobos, furões, lontras e texugos, contribuindo para a maior disseminação da infeção (ESCCAP, 2017b).

Alho *et al.* (2016) realizaram um rastreio serológico em canis, de Norte a Sul de Portugal, utilizando a técnica de ELISA em 906 cães. No total, 0,66% foram positivos no teste de antígeno e

anticorpo indicando uma infecção ativa, já 1,32% foram positivos apenas para o teste de anticorpo, indicando contacto prévio. Já no distrito de Lisboa, foram diagnosticados e relatados 4 casos esporádicos de angiostrongilose canina nos últimos anos (Madeira de Carvalho *et al.*, 2009, 2013; Nabais *et al.*, 2014; Morgado, 2016).

Ciclo biológico

O ciclo biológico é heteroxeno. A infecção do HD ocorre após ingestão de larvas L3, por ingestão direta de L3 livres na água e vegetação húmida, ou por ingestão de hospedeiros intermediários (HI), como moluscos gastrópodes (*Arion* spp.), ou de HP, como anfíbios, entre os quais, a rã. Após ingestão, as L3 penetram através da mucosa intestinal e migram para os linfonodos mesentéricos, onde se desenvolvem até L5. As larvas L5 continuam a sua migração, através do sistema linfático, para as veias hepática e porta atingindo, posteriormente, o ventrículo direito do coração e artérias pulmonares, onde se transformam em adultos (Moeremans, Binst, Claerebout, Van de Maele & Daminet, 2011). As fêmeas adultas iniciam a libertação de ovos 38 a 60 dias após a infecção. Destes ovos, eclodem larvas L1 que penetram nos alvéolos e progridem pela árvore brônquica até à faringe, sendo, posteriormente, deglutidas e excretadas nas fezes, como L1. Após a infecção estabelecida, o período patente é muito longo – possivelmente o resto da vida do animal, se não tratado (ESCCAP, 2017b). Por fim, as larvas L1 desenvolvem-se nos HI e HP, após ingestão de fezes contaminadas, até à sua forma infetante, L3 (Moeremans *et al.*, 2011). O PPP é cerca de 40-49 dias (ESCCAP, 2017b).

Ação patogénica

A angiostrongilose canina pode apresentar diversas manifestações clínicas, desde animais sem sinais clínicos a possível morte súbita. Os sinais mais frequentemente observados em infeções agudas são tosse seca, dispneia, anemia, depressão, anorexia e possíveis sinais de coagulopatia como melena, hemoptise ou hematomas subcutâneos. Em infeções graves, pode desenvolver-se insuficiência cardíaca direita ou mesmo obstrução das artérias pulmonares e possível morte súbita. Em casos crónicos, a reação inflamatória local pode resultar em pneumonia com anorexia, perda de peso, emaciação e hipertensão pulmonar associadas. O período patente é superior a 5 anos (ESCCAP, 2017b). Por vezes, larvas e adultos apresentam localizações ectópicas no cérebro, SNC e câmara anterior do olho. Nestes casos, podem manifestar-se alterações neurológicas como depressão, ataxia, paresia dos membros ou mudanças comportamentais e, a nível ocular, uveítes (Helm, Morgan, Jackson, Wotton & Bell, 2010).

Morfologia e diagnóstico

O diagnóstico é realizado por observação das larvas L1 através da técnica de Baermann, flutuação fecal (menos fiável) e, mais recentemente, da técnica FLOTAC (Schnyder, 2011; Alho *et*

al., 2016). As larvas podem ser numerosas e permanecer enroladas ou bastante ativas. A sua diferenciação, relativamente a outros nematodes respiratórios, é baseada nas suas dimensões, 310-400 x 14-16 µm, e na morfologia da cauda, em forma de curva sinusoidal com uma pequena espinha dorsal, referida como *kinky tail*; apresentam ainda um botão cefálico na extremidade anterior (Cesare & Traversa, 2014). Também se pode observar a presença de L1 a partir das secreções resultantes de uma lavagem brônquica. A deteção de antigénios circulantes no soro ou plasma, através de kits comerciais, está também disponível (ESCCAP, 2017b).

Em relação aos adultos, encontram-se normalmente localizados nos pulmões e artérias pulmonares e podem ser observados no exame *post-mortem*. Os machos medem 1,4 a 1,8 cm de comprimento e têm uma bolsa copuladora na extremidade caudal. As fêmeas apresentam maiores dimensões e têm um aspeto espiralado dos seus órgãos internos, semelhante ao das fêmeas de *Haemonchus contortus* dos pequenos ruminantes (Alho *et al.*, 2010).

Tratamento e controlo

O tratamento da angiostrongilose canina tem diversos protocolos recomendados, entre os quais, febendazol, imidaclopride/moxidectina, milbemicina-oxima, levamisol ou ivermectina, sendo, os dois primeiros, os mais comumente utilizados. As doses de febendazol podem ser 20-25 mg/kg PO, SID, durante 20 dias, ou 50 mg/kg PO, SID, durante 5-21 dias. Já a combinação de imidaclopride (10-25 mg/kg) e moxidectina (2,5-6,25 mg/kg) é administrada numa dose única, tópica (*spot-on*), de 0,1 ml/kg. Após o tratamento é recomendado um novo exame coprológico, com recurso à técnica de Baermann, para verificar a sua eficácia (Helm *et al.*, 2010). Dispneia grave e ascite podem surgir após o final de tratamento pelo que broncodilatadores, expectorantes e diuréticos podem ser necessários (CAPC, 2007).

Como controlo devem ser adotadas medidas profiláticas como a aplicação mensal tópica de moxidectina, a redução do contacto do HD com o HI e a remoção do ambiente das fezes do animal (CAPC, 2007; ESCCAP, 2017b).

2. Cestodes

Um parasita adulto pertencente à Classe Cestoda difere dos outros helmintes pelo seu corpo achatado, segmentado e sem canal digestivo (Urquhart *et al.*, 1996). As principais espécies de cestodes abordadas nesta dissertação pertencem à ordem Cyclophylidea, da qual fazem parte as famílias Taeniidae (géneros *Taenia* e *Echinococcus*) e Dipylidiidae (*Dipylidium caninum*) (Bowman, 2014).

Distribuição

Os cestodes, no geral, têm uma distribuição cosmopolita. A sua prevalência é variável e está condicionada por diversos fatores epidemiológicos, entre os quais, a forma de vida dos hospedeiros. A dipilidiose é comum em locais onde existem mais pulgas, que intervêm como HI, pelo que é frequente tanto em zonas rurais como urbanas (Acedo, Quílez & Cacho, 1999). Em Portugal e Lisboa, a sua prevalência é próxima de 1% (Lebre, 2011; Mateus, Castro, Ribeiro & Vieira-Pinto, 2014; Melo, 2017). A equinococose e as infeções por ténias são mais frequentes em meios rurais, já que estão ligadas ao consumo de carne e vísceras de gado (nomeadamente ruminantes e suínos) ou à predação de diferentes HI (Acedo *et al.*, 1999). Estudos recentes, em canis de Portugal, indicam prevalências de tenídeos até 10% (Santos, 2014; Félix, 2015; Braga, 2017; Owen, 2017).

Ciclo biológico

Todos os cestodes que parasitam o cão têm ciclos de vida heteroxenos, que requerem hospedeiros intermediários específicos. Os proglotídeos ovígeros são eliminados nas fezes e, quando sofrem rotura, libertam os ovos que, em condições ótimas de temperatura e humidade, se podem manter viáveis no ambiente durante mais de um ano. Os ovos contêm um embrião hexacanto (com três pares de ganchos) que, após ingestão pelo HI, evoluem para o estágio seguinte – metacestode –, que pode apresentar várias formas conforme o cestode (Tabela 1). Por sua vez, o HD infeta-se por ingestão de um HI parasitado. As migrações extraintestinais não existem. Cada metacestode ingerido pelo HD dá origem a uma ou mais ténias adultas, dependendo do número de protoescolices presentes em cada forma larvar (Ballweber, 2001).

Tabela 1 – Cestodes que afetam os canídeos e características associadas ao ciclo biológico
(Adaptado de Bowman (2014) e ESCCAP (2017))

Família	Espécie	Hospedeiro		Metacestode		PPP
		Intermediário	Tipo	Nome	Localização	
Taeniidae	<i>Taenia pisiformis</i>	Lagomorfos	Cisticerco	<i>Cysticercus pisiformis</i>	Cavidade abdominal, fígado	42-56 dias
	<i>Taenia hydatigena</i>	Ruminantes e porcos	Cisticerco	<i>Cysticercus tenuicollis</i>	Cavidade abdominal, fígado	49-70 dias
	<i>Taenia ovis</i>	Ovelhas e cabras	Cisticerco	<i>Cysticercus ovis</i>	Tecido muscular	42-56 dias
	<i>Taenia serialis</i>	Coelhos e roedores	Cenuro	<i>Coenurus serialis</i>	Tecido muscular e subcutâneo	28-56 dias
	<i>Taenia multiceps</i>	Ruminantes	Cenuro	<i>Coenurus cerebralis</i>	Cérebro e medula espinal	42 dias
	<i>Echinococcus granulosus</i>	Ovelhas	Equinococo ou Quisto hidático unilocular	<i>Echinococcus polymorphus</i>	Fígado, pulmões, entre outros tecidos	45-60 dias
	<i>Echinococcus multilocularis</i>	Roedores e lagomorfos	Equinococo ou Quisto hidático multilocular	<i>Echinococcus multilocularis</i>	Fígado e pulmões	28 dias
Dipylidiidae	<i>Dipylidium caninum</i>	Piolhos e pulgas	Larva cisticercoide	<i>Cryptocystis trichodectes</i>	Cavidade geral do inseto	21 dias

Ação patogénica

A infeção por *Taenia* spp. e *Dipylidium caninum* no cão é raramente associada a sinais clínicos. A passagem de proglotídeos nas fezes pode estar associada a irritação perianal. Obstruções intestinais podem ocorrer (CAPC, 2016b). Os tutores podem identificar segmentos móveis a rastejar na pelagem dos animais, à volta do ânus. Relativamente a *Echinococcus* spp., foram

relatados na Europa casos ocasionais de equinococose alveolar em cães, que funcionam como hospedeiros intermediários aberrantes, com desenvolvimento de quistos hidáticos multiloculares. O prognóstico, nestes casos, é reservado (CAPC, 2016b). O período patente destes cestodes pode durar vários meses e, no caso de *Taenia* spp., anos (e.g. *T. ovis* tem um período patente de 5 anos) (ESCCAP, 2017b).

Morfologia e diagnóstico

O diagnóstico é realizado pela identificação de proglotídeos no material fecal ou por reconhecimento dos ovos em flutuações fecais.

Os proglotídeos móveis de *Taenia* spp. e *Dipylidium caninum* podem ser observados na região perianal do HD, no ambiente em que vive (na cama, por exemplo) ou no material fecal em si. Já adultos de *Echinococcus* spp. são extremamente difíceis de se observar, nas fezes, a olho nu (Ballweber, 2001). As características morfológicas de cestodes adultos podem ser consultadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Características morfológicas dos cestodes adultos que afetam canídeos
(Adaptado de Conboy (2009) e Bowman (2014))

Espécie	Escólex	Proglotídeos	Dimensão
<i>Taenia</i> spp.	Armado com 2 coroas de ganchos e 4 ventosas	Forma rectangular com poro genital unilateral, proeminente	Até 5 metros
<i>Echinococcus</i> spp.	Armado com 2 coroas de ganchos e 4 ventosas	Poro genital na metade posterior de cada segmento	<i>E. granulosus</i> : 2-7 mm com 3-4 segmentos <i>E. multilocularis</i> : 1,2-4,5 mm com 4-5 segmentos
<i>Dipylidium caninum</i>	Rostelo retrátil com 30 a 150 pequenos ganchos e 4 ventosas	Forma alargada e oval, semelhante a sementes de pepino; poros genitais duplos	15-70 cm x 3 mm

Os ovos podem ser identificados pela técnica de flutuação fecal. Os ovos de *Echinococcus* spp. e de *Taenia* spp. não são microscopicamente diferenciáveis; ambos têm coloração acastanhada, formato ovoide, uma parede espessa com estrias radiadas e dimensões de 25-40 µm. Os ovos de *Dipylidium caninum* surgem normalmente em cápsulas ovígeras (25 a 30 por cápsula), com dimensões de 35-60 µm (Conboy, 2009).

Relativamente à equinococose, o cELISA é o método de eleição em análises em massa porque é rápido, sensível e barato. A identificação por PCR também permite o diagnóstico *in vivo* (CAPC, 2017b).

Tratamento e controlo

O Praziquantel, numa dose 5 mg/kg PO ou SC, está recomendado no tratamento da infeção por cestodes em cães. Epsiprantel é usado em doses diferentes consoante o cestode: 5,5 mg/kg para *Taenia* spp. e *Dipylidium caninum* ou 7,5 mg/kg para *Echinococcus multilocularis*. Febendazol, numa dose de 50 mg/kg PO, SID, durante 3 dias, também está aprovado no tratamento de ténias em cães. No caso de *Dipylidium caninum*, o tratamento deve ser acompanhado por um controlo apropriado de ectoparasitas, nomeadamente de pulgas e piolhos. (Conboy, 2009).

Existem casos relatados de infeções zoonóticas causadas por larvas de *Taenia* spp. que parasitam os cães. Já a infeção de crianças, por *Dipylidium caninum*, é ocasionalmente identificada; a doença induzida é ligeira e confinada ao trato intestinal, sendo tratada facilmente. Ambas as espécies de *Echinococcus* têm fases de metacestode que podem causar zoonoses, com formação de quistos, mais frequentemente, a nível do fígado (ESCCAP, 2017b). O controlo dos cestodes no cão limita o risco de infeções zoonóticas. A não eliminação de carcaças e vísceras, pelo Homem, e de comportamentos de predação do cão, deve ser evitada (Conboy, 2009).

3. Protozoários

3.1. *Giardia* spp.

Giardia duodenalis (syn. *G. intestinalis*, *G. lamblia*) parasita um grande número de vertebrados, incluindo o cão, e é atualmente classificada em grupos ou assemblages. Dependendo da especificidade do hospedeiro, estes grupos variam de A a G sendo que as *assemblages* C e D são as mais frequentemente encontradas no cão (ESCCAP, 2011). Foram já relatados casos de cães infetados com *assemblages* A e B, que infetam o Homem. Contudo, a transmissão de canídeos para humanos foi identificada em casos raros (Ballweber, Xiao, Bowman, Kahn & Cama, 2010).

Distribuição

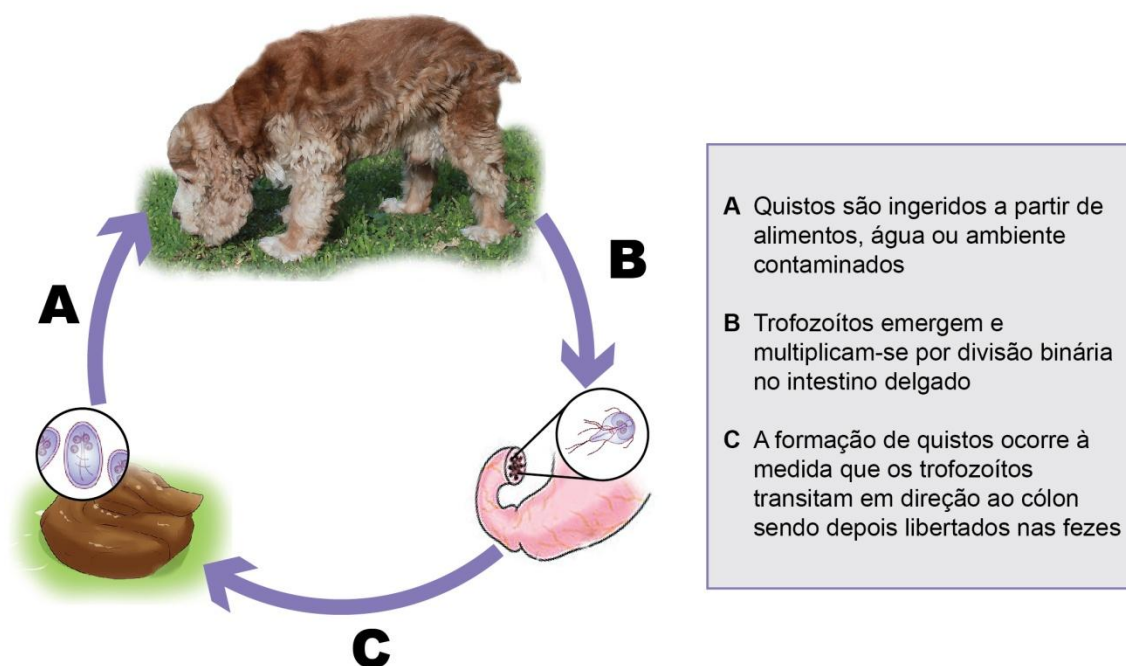
A distribuição de *Giardia* spp. é mundial. Na Europa, a prevalência total nos cães varia entre 3 e 7%. No entanto, este número é significativamente maior em animais jovens, com menos de um ano de idade, sendo o endoparasita mais frequente desta faixa etária. A excreção de quistos, forma infetante, ocorre tanto em animais doentes como saudáveis. Apesar de muito resistentes em climas frios e húmidos, os quistos podem ser suscetíveis à dessecação e permanecer em reduzido número durante o Inverno (ESCCAP, 2011).

Em Portugal, estudos recentes demonstraram uma prevalência de 33% em canis de Beja (Braga, 2017), 21,6% em canis de Viseu (Pitaes, Nunes, Fernandes & Madeira de Carvalho, 2015), e 47% em canis de Évora (Ferreira *et al.*, 2011). Em Lisboa, foi observada uma prevalência de 11,4% em amostras fecais colhidas de parques para cães (Ferreira *et al.*, 2017) e 61,1% (33/54) em 3 canis de Lisboa com recurso a testes comerciais de imunofluorescência direta (IFD) (Lebre *et al.*, 2011).

Ciclo biológico

Giardia spp. tem um ciclo de vida monoxeno e a sua transmissão é fecal-oral. O cão ingere os quistos, a partir de alimentos, água ou ambientes contaminados. Após ingestão dos quistos, os trofozoítos livres resultantes aderem à bordadura em escova da porção proximal do intestino delgado e multiplicam-se por divisão binária (reprodução assexuada). Posteriormente, cada trofozoíto transita em direção ao cólon e forma um novo quisto (Ballweber, 2001; CAPC, 2017c). Os trofozoítos podem também ser encontrados nas fezes, sobretudo em infeções agudas, tendo um tempo de vida muito curto fora do hospedeiro, devido à sua baixa resistência no meio ambiente. O PPP de *Giardia* spp. varia entre 4 a 16 dias e a eliminação dos quistos nas fezes é, muitas vezes, intermitente. O período patente pode variar desde algumas semanas até vários meses (ESCCAP, 2011; Pitaes *et al.*, 2015).

Figura 1 – Ciclo de vida de *Giardia* spp. (original)



Ação patogénica

A infecção por *Giardia* spp. é comum nos carnívoros domésticos mas nem sempre é um agente patogénico primário efetivo porque muitos dos cães infetados são portadores subclínicos. Apesar de a maioria dos cães se manter sem sinais clínicos, alguns podem desenvolver diarreia mucoide crónica intermitente, anorexia, perda de peso, vômito e letargia (ESCCAP, 2011). Geralmente controlada por um sistema imunitário saudável, a *Giardia* spp. pode ser fatal em animais com o sistema imunitário comprometido (Pitaes *et al.*, 2015).

Morfologia e Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se na deteção de trofozoítos e quistos através das técnicas de flutuação passiva pelo método de Willis com $ZnSO_4$ e esfregaço fecal direto com coloração de Ziehl-Neelsen modificada. Os trofozoítos têm um formato de pera, são simétricos bilateralmente, com o disco aderente côncavo na superfície ventral, com dois núcleos e quatro pares de flagelos que lhes permite a mobilidade, com dimensões de 12-18 x 10-12 μm . Os quistos têm um formato elipsoidal, com 2 a 4 núcleos, não são móveis e medem cerca de 8-12 x 7-10 μm (ESCCAP 2011; CAPC, 2017c).

A intermitência observada na excreção dos quistos e trofozoítos é uma das principais barreiras quanto ao correto diagnóstico de giardiose. Um único resultado negativo não exclui a presença de infecção sendo recomendada a realização de três exames coprológicos num período de 3 a 5 dias (Pitaes *et al.*, 2015).

Outros possíveis meios de diagnóstico são testes ELISA (deteção de antígenos nas fezes), testes de imunofluorescência direta (IFD) ou PCR, para identificação da assemblage (CAPC, 2017c). No

exame *post-mortem* podem efetuar-se raspagens do intestino delgado para posterior esfregaço e identificação de trofozoítos (Ballweber, 2001).

Tratamento e controlo

A CAPC (2017c) recomenda, para o tratamento de giardiose em cães, a administração de febendazol SID numa dose de 50 mg/kg, durante 5 dias. Como alternativa, pode ser utilizada uma combinação de febendazol SID a 50 mg/kg com metronidazol BID a 25 mg/kg durante 5 dias. Possíveis falhas no tratamento podem dever-se a reinfeções, coinfeções, doenças subjacentes ou eliminação incompleta do parasita durante o tratamento. Para remoção das formas infetantes presentes na pelagem do animal e, consecutivamente, redução da ocorrência de reinfeções, pode realizar-se um banho no início e outro no final do tratamento, com a aplicação de um champô com digluconato de clorexidina (ESCCAP, 2011). Se ambos os tratamentos, em combinação com os banhos, não eliminarem a infeção, podem ser prolongados por mais 10 dias (CAPC, 2017c).

Outras possíveis opções de tratamento incluem a combinação de febantel, pamoato de pirantel e praziquantel em comprimido (15 mg/kg, 14,4 mg/kg e 5 mg/kg respetivamente, SID, durante 3 dias) ou o uso de metronidazol isolado, alternativa comumente utilizada na prática clínica, embora de baixa eficácia (cerca de 50 a 60%) (ESCCAP, 2011; CAPC, 2017c). O albendazol, apesar de eficaz contra *Giardia* spp., não deve ser utilizado em cães devido aos seus possíveis efeitos tóxicos na medula óssea (Bowman, 2014; CAPC, 2017c).

O controlo da giardiose envolve algumas medidas críticas, entre as quais, a prevenção da contaminação fecal de fontes de alimentação e água e a sanitização e desinfeção do ambiente (Bowman, 2014). Os animais com diarreia devem permanecer em quarentena até serem diagnosticados e tratados de modo apropriado, especialmente em locais com uma densidade populacional elevada, como canis (ESCCAP, 2011).

3.2. *Cystoisospora* spp.

O género *Cystoisospora* inclui várias espécies que parasitam o cão, entre as quais, *Cystoisospora canis*, *C. ohionensis* e *C. burrowsi* (ESCCAP, 2011).

Distribuição

As espécies de *Cystoisospora* spp. que afetam o cão têm uma distribuição cosmopolita. O grupo de animais mais afetado são cachorros com menos de 4 meses de idade. Os oocistos mantêm-se infetantes no ambiente durante alguns meses e podem acumular-se em canis ou outros locais onde a densidade de hospedeiros suscetíveis é mais elevada (ESCCAP, 2011).

Estudos recentes demonstraram uma prevalência entre 5 a 8% em canis de Portugal (Ferreira, 2011; Félix, 2015; Braga, 2017). No distrito de Lisboa, foi observada uma prevalência de 1,1% em

amostras fecais colhidas de parques para cães (Ferreira *et al.*, 2017), 12,1% em cães (Lebre *et al.*, 2011) e 2,5% em cães com proprietário em Vila Franca de Xira (Morgado, 2016).

Ciclo biológico

O ciclo de vida de *Cystoisospora* spp. é monoxeno, a não ser que esteja envolvido um hospedeiro paratênico, no qual passa a ser heteroxeno. A transmissão ocorre por via fecal-oral (ESCCAP, 2011). Os oocistos são eliminados nas fezes e esporulam em 2 a 4 dias resultando em dois esporocistos, contendo cada um quatro esporozoítos, que constituem a forma infetante (Ballweber, 2001). Após a ingestão dos oocistos esporulados, os esporozoítos são libertados ao longo do trato gastrointestinal onde se multiplicam intracelularmente. Quando oocistos são ingeridos por um HP, os esporozoítos migram para tecidos extraintestinais onde enquistam formando bradizoítos, que se podem manter infetantes vários anos. O PPP dura 6 a 10 dias; quando envolvido um HP pode ser ligeiramente mais curto. O período de excreção de oocistos é variável sendo, na maioria dos animais, cerca de 5 a 10 dias (ESCCAP, 2011).

Ação patogénica

A infeção por *Cystoisospora* spp. não está frequentemente associada a manifestações clínicas. Fatores como doenças concomitantes, imunodepressão de origem infecciosa ou iatrogénica ou stress, associado a alterações ambientais, podem exacerbar a evolução clínica da doença. Os sinais clínicos mais frequentes incluem diarreia, por vezes com sangue, desidratação e perda de peso. Em casos graves, os canídeos podem apresentar ainda anorexia, vómitos e depressão. Em última instância, a morte pode ocorrer (CAPC, 2016c).

Morfologia e diagnóstico

O diagnóstico de coccidiose em cães é efetuado com base na história, nos sinais clínicos e na estrutura dos oocistos presentes nas fezes. O exame coprológico deve ser realizado através de técnicas de flutuação fecal (CAPC, 2016c). A distinção entre as diferentes espécies é difícil; todas apresentam um formato arredondado-ovoide, mas diferentes dimensões: *C. canis* com 39 µm por 32 µm, *C. ohioensis* com 24 µm por 20 µm e *C. burrowsi* com 21 µm por 18 µm (ESCCAP, 2011). Quando as amostras fecais são frescas, os oocistos contêm uma célula redonda única no seu interior, o esporoblasto (Zajac & Conboy, 2012). Em amostras fecais, com tempo superior a 12 horas, é possível identificar-se, no interior dos oocistos, dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítos (ESCCAP, 2011).

Tratamento e controlo

O tratamento deve incluir todos os animais suscetíveis em contato com animais com doentes. A administração diária de sulfonamidas durante 5-7 dias (e.g. sulfadimetoxina 50-60 mg/kg) é eficaz

no controlo de diarreias mas não na excreção de oocistos. Para isso, é necessária a administração única de toltrazuril, numa dose de 9-20 mg/kg, sendo que a sua aplicação no PPP reduz significativamente a excreção de oocistos nas fezes e diarreias. A combinação de toltrazuril (9 mg/kg) e emodepside (0,45 mg/kg) pode ainda ser utilizada em cães com coinfeções com helmintes (ESCCAP, 2011; CAPC, 2016c).

Adicionalmente ao tratamento, a sanitização apropriada dos canis, ou de outros locais com altas densidades populacionais, é aconselhada. Os oocistos infetantes são muito resistentes no ambiente pelo que a remoção diária das fezes e a limpeza com desinfetantes, contendo altas concentrações de amónia, constituem medidas críticas (CAPC, 2016c).

3.3. *Cryptosporidium* spp.

De entre as várias espécies deste género, *Cryptosporidium parvum* é uma espécie eurixena, com pouca especificidade em relação ao hospedeiro, afetando vários mamíferos entre os quais, ocasionalmente, cães e gatos. *C. canis* tem sido identificado primariamente em cães (ESCCAP, 2011). Ambas as espécies podem infetar, embora pouco frequentemente, o Homem (CAPC, 2017a).

Epidemiologia

Cryptosporidium sp. apresenta uma distribuição mundial. Estudos serológicos sugerem que a infeção é comum em cães. Para identificação das espécies, é necessário recorrer a testes moleculares, não disponíveis comercialmente em todos os laboratórios (CAPC, 2017a).

Em Portugal, as prevalências observadas em canil não são elevadas, com valores até 15% em todo o território (Lebre, 2011; Santos, 2014; Leal, 2015; Braga, 2017). Já em Lisboa, 11,9% das amostras fecais recolhidas em parques urbanos estavam infetadas (Ferreira *et al.*, 2017).

Ciclo biológico

Cryptosporidium spp. tem um ciclo de vida monoxeno e a transmissão ocorre por ingestão de oocistos esporulados a partir do ambiente, alimentos, utensílios ou água contaminados com fezes (CAPC, 2017a). Após ingestão, dos oocistos são libertados esporozoítos que invadem o epitélio do intestino delgado e iniciam a multiplicação intracelular assexuada, com formação de merontes. A replicação endógena termina na produção de estágios sexuais que se fundem para formar um oocisto que esporula nos intestinos e é excretado nas fezes na forma infetante (ESCCAP, 2011). Os oocistos são libertados nas fezes 3 a 6 dias após a infeção e são imediatamente infetantes, sendo capazes de sobreviver no ambiente por longos períodos de tempo (CAPC, 2017a). A autoinfeção, a partir de oocistos roturados previamente à excreção, é comum e pode resultar na libertação de elevadas cargas parasitárias, num curto período de tempo. O PPP varia de 2 a 14 dias. A excreção dura 25 a 80 dias (ESCCAP, 2011).

Ação patogénica

A criptosporidiose é frequentemente uma doença auto-limitante, caracterizada por diarreias aquosas que podem levar a desidratação grave (CAPC, 2017a). Outros sinais possíveis são dor abdominal, vômito e febre. Os adultos imunocompetentes apresentam, normalmente, infeções subclínicas (ESCCAP, 2011). A maioria dos casos com sinais clínicos ocorre em cães imunocomprometidos, com coinfeções por outros microrganismos como *Giardia* spp. ou com doenças pré-existentes ao nível do intestino, como a Doença Inflamatória Intestinal (IBD) ou linfoma (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Morfologia e Diagnóstico

Os oocistos podem ser detetados por esfregaços fecais com coloração de Ziehl-Neelsen. Os oocistos são redondos e pequenos, com 4-6 µm de diâmetro, e de cor avermelhada, após coloração (ESCCAP, 2011; CAPC, 2017a). O diagnóstico pode ser dificultado visto que a libertação de oocistos nas fezes é intermitente, pelo que um resultado negativo pode não ser suficiente para considerar o diagnóstico realmente negativo (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Tal como em *Giardia* spp., estão comercialmente disponíveis kits de pesquisa de antígeno nas fezes (ELISA) para deteção de infeções, ainda que o número de oocistos excretados seja baixo (ESCCAP, 2011). O diagnóstico por testes de imunofluorescência direta (IFD), com melhor sensibilidade e especificidade, é pouco utilizado já que requer microscopia com fluorescência. O diagnóstico molecular por PCR, se comercialmente disponível, apenas é utilizado em genotipagem ou em casos de diarreias crónicas com resultados negativos noutros testes (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Tratamento e controlo

Não existem fármacos aprovados para o tratamento da criptosporidiose em animais de companhia. O tratamento de sinais clínicos com fluidoterapia e medicação espasmolítica é, por norma, suficiente já que a maioria das infeções se resolve espontaneamente (ESCCAP, 2011). Em casos crónicos, está descrito o uso de um aminoglicosídeo em cães, a paramomicina, na dose 150 mg/kg SID, durante 5 dias (CAPC, 2017a).

O controlo da transmissão de criptosporidiose inclui a eliminação dos oocistos no ambiente, que apenas apresentam suscetibilidade a formulações comerciais de amónia e a temperaturas superiores a 70°C (CAPC, 2017a). Outra medida de controlo importante é a separação de animais com manifestações clínicas dos animais sem sinais (Tangtrongsup & Scorza, 2010). Devido à sua baixa especificidade em relação ao hospedeiro, *C. parvum* pode infetar o Homem, enquanto as infeções por *C. canis* estão normalmente restringidas a pacientes humanos com o sistema imunitário comprometido (ESCCAP, 2011).

B. TOLERÂNCIA NA RELAÇÃO HOSPEDEIRO-PARASITA

Existem diversos fatores a ter em conta quando existe uma infeção parasitária ativa, desde o tratamento preventivo selecionado, a epidemiologia local ou a perceção do tutor aos fatores de risco individuais dos seus canídeos. Neste último, incluem-se comportamentos de predação e coprofagia, a ingestão de dietas cruas, a pré-exposição a parasitas, a idade do canídeo, a sua fisiologia e/ ou o seu estado de saúde, que pode estar comprometido (ESCCAP, 2017a).

A resposta imune de um hospedeiro imunocompetente contra os parasitas é um sistema complexo no qual intervêm mecanismos de imunidade celular e humoral. Estes mecanismos envolvem a produção de citocinas pró-inflamatórias e a apresentação de antígenos a células T, através de células apresentadoras de antígenos que expressam moléculas de MHC classe II. A mucosa intestinal, organizada em placas de Peyer e plasmócitos, constitui uma importante barreira anatómica natural que, quando intacta, confere proteção relativamente à maioria dos agentes infecciosos (Botero *et al.*, 2003). O muco presente no trato gastrointestinal envolve os parasitas, nomeadamente nematodes, e expulsa-os para o exterior do hospedeiro. Por outro lado, a integridade da parede intestinal, formada por junções intercelulares oclusivas, impede a penetração de outros microrganismos (Junqueira & Carneiro, 2008). A produção, pelas células epiteliais, de péptidos antimicrobianos, como as defensinas, e de monóxido de azoto, e a presença da microbiota comensal assumem também um importante papel na defesa contra parasitas, nomeadamente na giardiose (Lopez-Romero, Quintero, Astiazarán-García & Velazquez, 2015). Os plasmócitos produzem e secretam IgA impedindo a adesão à mucosa de parasitas extracelulares (Botero *et al.*, 2003); produzem também IgE, que se ligam aos recetores dos mastócitos, sensibilizando-os. Por sua vez, os mastócitos, ao produzir fatores quimiotáticos, recrutam células inflamatórias tais como os eosinófilos, células *natural killer* ou neutrófilos, com particular importância na defesa contra helmintes, em particular os nematodes, e protozoários (Zembower, 2014).

Com o sistema imunitário comprometido, aumenta a suscetibilidade a infeções e/ou doenças oportunistas, entre as quais infeções parasitárias, com elevados índices de morbilidade e mortalidade (Botero *et al.*, 2003; Gabe, Almeida & Siqueira, 2009). Hospedeiros imunodeprimidos têm maior probabilidade de adquirir infeções após exposição, de ter doença com maior gravidade, mais disseminada, ou de não conseguir eliminar a infeção sem tratamento farmacológico associado (Kazemi, Tavalla, Maraghi & Sharafkhani, 2014).

A imunodepressão em cães pode ter várias causas como traumatismo, doença, fármacos, toxinas, stress ou procedimentos veterinários, que podem incluir a vacinação ou a anestesia por exemplo (Datz, 2010). Entre os fármacos referidos, incluem-se os fármacos quimioterápicos, utilizados no tratamento de doenças oncológicas.

C. QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLÁSICA

1. Oncologia Veterinária

A incidência de doenças oncológicas em animais de companhia tem vindo a aumentar ao longo do tempo (Withrow, Vail & Page, 2013). Um estudo que se prolongou por 20 anos nos Estados Unidos da América (EUA), com uma amostra populacional superior a 74000 cães, identificou as neoplasias como a mais frequente causa de morte em cães com idade superior a 1 ano (Fleming, Creevy & Promislow, 2011). Este facto pode ser associado à maior procura de cuidados médicos por parte dos tutores, o que permite um maior número de casos diagnosticados pelo médico veterinário, mas também um aumento da esperança média de vida dos animais (Withrow *et al.*, 2013).

A terapêutica oncológica é específica e multifatorial. A escolha da modalidade terapêutica é baseada no tipo de tumor, grau histológico e estágio e pode incluir cirurgia, radioterapia, quimioterapia, imunoterapia, entre outras, podendo ter carácter paliativo, curativo ou de diagnóstico (Biller *et al.*, 2016).

A quimioterapia é uma das modalidades mais frequentes em medicina veterinária. A quimioterapia convencional, a quimioterapia metronómica e a quimioterapia dirigida usando inibidores da tirosina quinase estão todas disponíveis atualmente e diferem nas suas indicações e objetivos (Biller *et al.*, 2016)

2. Estratégias da quimioterapia

Antes de se iniciar a terapia, devem ser considerados diversos fatores relacionados com o doente, o tutor e o tratamento, que são fulcrais no sucesso terapêutico.

Relativamente ao doente, o diagnóstico histopatológico efetivo, o estadiamento tumoral e a avaliação do estado de saúde geral são importantes num correto estabelecimento de prognóstico e na prescrição de um plano terapêutico adequado. É importante detetar outras condições sistémicas que possam afetar a esperança de vida do animal, como doença hepática ou renal, e que possam ter implicações durante o tratamento (Lana & Dobson, 2011; Frimberger & Moore, 2017).

É essencial que seja cedida uma informação completa ao tutor acerca do estado de saúde do animal garantindo uma correta gestão de expectativas. O discurso do médico veterinário deve ser franco e claro e abordar os potenciais benefícios, toxicidade, custos ou tempo despendido durante a quimioterapia (Gustafson & Page, 2013).

Relativamente ao tratamento quimioterápico, pode ter uma abordagem paliativa ou curativa (Frimberger & Moore, 2017). A abordagem paliativa pretende melhorar a qualidade de vida e, se possível, prolongá-la, sem quaisquer expectativas de cura. Está indicada em casos de mau prognóstico, neoplasias sem indicação cirúrgica ou doença disseminada, que estejam associados a distúrbios funcionais ou de dor, e em que o risco de toxicidade significativa, associada à

quimioterapia convencional, não se justifique para o tempo de vida do doente (Gustafson & Page, 2013; Frimberger & Moore, 2017). O tratamento curativo é definido como a erradicação de todas as células tumorais, resultando num estado livre de doença permanente. Na realidade, a restrição nas doses dos quimioterápicos com o intuito de reduzir possíveis efeitos secundários significa que a cura apenas é possível em alguns casos (e.g. 15% dos casos de linfoma canino ou 20% dos osteossarcomas caninos administrados com terapia *standard*) (Frimberger & Moore, 2017).

2.1. Indicações da quimioterapia

Em medicina veterinária, a quimioterapia pode estar indicada em diversas situações, em combinação ou não com outras modalidades terapêuticas.

A quimioterapia primária, como único tratamento, está normalmente reservada a neoplasias hematopoiéticas como o linfoma, leucemia ou mieloma múltiplo. Para cães com tumores sólidos metastáticos, como carcinomas e sarcomas, raramente é utilizada isoladamente e é administrada, sobretudo, com um carácter paliativo (Frimberger & Moore, 2017).

A quimioterapia adjuvante é utilizada após ressecção cirúrgica do tumor primário ou radioterapia com o objetivo de abrandar o progresso da doença metastática ou providenciar a possibilidade de cura (Gustafson & Page, 2013; Frimberger & Moore, 2017). Este tipo de tratamento é efetivo porque é utilizado em casos de estágios iniciais de crescimento. Um exemplo é a quimioterapia direcionada para metástases microscópicas, após amputação cirúrgica de um membro, no caso de um osteossarcoma (Frimberger & Moore, 2017).

A quimioterapia neoadjuvante é utilizada previamente à cirurgia ou radioterapia, tendo como objetivo a redução do tamanho do tumor primário e sua extensão (e.g. mastocitoma canino), prevenir o possível crescimento pós-operatório de micrometástases ou reduzir os riscos de efeitos secundários noutros tratamentos definitivos (Biller *et al.*, 2016; Frimberger & Moore, 2017). A quimioradioterapia refere-se à utilização inicial de quimioterápicos com efeito radio-sensibilizante, facilitando e melhorando a eficácia da radioterapia utilizada posteriormente (Frimberger & Moore, 2017).

2.2. Classes de compostos antineoplásicos e mecanismos de ação

A quimioterapia pressupõe a utilização de fármacos antineoplásicos ou citostáticos, cuja atuação nas células neoplásicas provoca danos numa fase do ciclo celular de forma específica ou não específica. Diferentes classes de quimioterápicos atuam em diferentes fases do ciclo celular. Na sua globalidade, estes compostos podem lesar o ADN e prevenir a replicação celular e/ou induzir a apoptose ou podem atuar durante uma fase específica do ciclo celular, como por exemplo a mitose, ao prevenir que esse processo se complete (Lana & Dobson, 2011). Na Tabela 3 estão descritas classes de quimioterápicos, utilizadas em protocolos convencionais e presentes neste estudo, e respetivos mecanismos de ação e exemplos de compostos quimioterápicos.

Tabela 3 – Classes de compostos quimioterápicos, mecanismos de ação e exemplos

(Adaptado de Vail (2010) e Gustafson & Page (2013))

Classe de quimioterápico	Mecanismo de Ação	Exemplos
Alcalóides da Vinca	Ligam-se aos microtúbulos impedindo a formação e função normal do fuso mitótico resultando na interrupção da divisão celular	Vincristina Vimblastina Vinorelbina
Agentes Alquilantes	Contém grupos alquilo que formam ligações cruzadas com moléculas de ADN interferindo com a transcrição, replicação e reparo	Clorambucilo Ciclofosfamida Lomustina
Antraciclinas	Inibem a síntese e função do ADN através da formação de radicais livres e da inibição das enzimas topoisomerase, necessárias à replicação do ADN	Doxorrubicina
Compostos platinados	Ligam-se ao ADN e inibem a sua síntese e função	Carboplatina
Outros compostos		
L-asparaginase	Inibe a síntese de proteínas por hidrolisar L-asparagina das células tumorais e induz apoptose	
Corticosteroides	Ligam-se aos recetores de glucocorticóides no núcleo e inibem a síntese de ADN. Induzem apoptose de linfoblastos, plasmócitos e mastócitos	Prednisolona
Anti-inflamatórios Não Esteróides	Inibem a ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e, indiretamente, a angiogénese tumoral	Piroxicam Meloxicam

A capacidade de divisão mitótica e a proporção entre as células em divisão e as células em repouso são fatores importantes na suscetibilidade dos tumores à quimioterapia. Assim, neoplasias com maior índice mitótico apresentam maior suscetibilidade do que tumores com maiores dimensões, cujo rácio de crescimento é menor, sendo, por isso, menos suscetíveis (Gustafson & Page, 2013).

2.3. Quimioterapia combinada *versus* Monoterapia

Os agentes quimioterápicos podem ser utilizados isoladamente ou em combinação.

Nos protocolos de fármaco único ou monoterapia, os custos financeiros e o risco de toxicidade são menores. Por outro lado, têm frequentemente uma eficácia reduzida, uma menor capacidade

de controlo do desenvolvimento tumoral e maior possibilidade de proliferação de células neoplásicas resistentes ao fármaco em utilização (Lana & Dobson, 2011). Isto verifica-se porque um tumor clinicamente detetável é heterogéneo e poderá conter uma população resistente de células tumorais (Gustafson & Page, 2013).

Os protocolos combinados têm a capacidade de ultrapassar as resistências presentes e de atrasar a formação de resistências cruzadas. Nestes protocolos são utilizados fármacos com diferentes mecanismos de ação com o objetivo de aumentar o espectro de ação numa população celular heterogénea, maximizando o número de células neoplásicas eliminadas (Gustafson & Page, 2013). Cada fármaco deverá ter atividade demonstrada isoladamente contra a neoplasia-alvo e ser administrado na dose máxima tolerada (DMT) com o menor risco de toxicidade. As desvantagens são o maior risco associado de toxicidade e um aumento dos custos financeiros (Lana & Dobson, 2011).

2.4. Quimioterapia convencional: doses, frequência e vias de administração

A quimioterapia convencional refere-se à administração de fármacos citotóxicos, na dose máxima tolerada, em intervalos de tempo definidos, de acordo com a recuperação adequada de populações celulares normais mais sensíveis, como o epitélio intestinal ou as células precursoras da medula óssea (Morris & Dobson, 2001; Gustafson & Page, 2013; Biller *et al.*, 2016). Uma única sessão de quimioterapia não é suficiente para eliminar todas as células tumorais, pelo que deverão ser realizadas várias sessões, em intervalos de tempo repetidos (Lana & Dobson, 2011). O intervalo deve ser o menor possível para que a expansão da população tumoral não se verifique (Morris & Dobson, 2001).

A extrapolação de doses, a partir da medicina humana, é realizada para a maioria dos quimioterápicos usados em medicina veterinária. As doses utilizadas nos animais são assim proporcionalmente inferiores às de medicina humana, com o intuito de reduzir os riscos de efeitos tóxicos (Hahn, 2002). O cálculo das doses é invariavelmente um compromisso entre a eficácia e a toxicidade e é realizado, para a maioria dos compostos citostáticos, em função da área de superfície corporal, dada em metros quadrados (Morris & Dobson, 2001). A dose máxima tolerada deve ser administrada sempre que possível. Corresponde a um valor empírico que representa a dose mais elevada de um fármaco que pode ser administrada sem que se verifiquem efeitos secundários, não aceitáveis ou irreversíveis, numa amostra populacional limitada (Gustafson & Page, 2013). A variabilidade farmacocinética dos quimioterápicos apresenta diferenças individuais em relação à absorção, distribuição, metabolismo e eliminação, aumentando o risco quer de toxicidade quer de subdosagens terapêuticas (Undevia, Gomez-Abuin & Banks, 2005).

A eficácia do tratamento, bem como a toxicidade resultante, podem depender também das vias de administração disponíveis em medicina veterinária, sendo as mais comuns a oral (PO) e a intravenosa (IV). Os fármacos de via oral podem ser utilizados em monoterapia, protocolos

combinados ou em quimioterapia metronómica sendo os mais utilizados a ciclofosfamida, o clorambucilo e a lomustina (Undevia *et al.*, 2005; Henry & Higginbotham, 2010). Já a administração intravenosa, tem como vantagem uma atuação mais rápida e apresentar maior biodisponibilidade farmacológica (Hahn, 2002; Undevia *et al.*, 2005; Henry & Higginbotham, 2010). Recorre à colocação de cateteres, preferencialmente nas veias periféricas dos animais, com posterior monitorização pela possibilidade de extravasão de fármacos com efeitos irritantes para os tecidos locais. Os fármacos disponíveis são a carboplatina, a ciclofosfamida, o clorambucilo, a doxorubicina, a l-asparaginase, a lomustina, a vimblastina e a vincristina, entre outros (Hahn, 2002; Henry & Higginbotham, 2010). É importante referir também as administrações intralesional e intracavitária, utilizadas quando se pretende a exposição direta das células tumorais a concentrações superiores às obtidas sistemicamente (Gorman & Jeffrey, 2013).

2.5. Quimioterapia metronómica

A quimioterapia metronómica baseia-se na administração de compostos quimioterápicos convencionais, numa dose inferior à DMT, em intervalos de tempo frequentes e regulares (Biller *et al.*, 2016).

O princípio de ação pressupõe uma exposição contínua das células tumorais suscetíveis, alterações na imunologia tumoral e um efeito citotóxico direto nas células endoteliais vasculares, inibindo a angiogénese tumoral, responsável pelo crescimento progressivo e metastático das neoplasias (Mutsaers, 2009; Barros & Repetti, 2015). A dosagem utilizada atribui-se ao facto de as células endoteliais, em comparação a células não endoteliais, serem mais sensíveis a uma exposição contínua a baixas doses de quimioterápicos e menos suscetíveis de sofrer mutações genéticas, responsáveis pelo desenvolvimento rápido de resistências (Elmsie, Glawe & Dow, 2008). Deste modo, a quimioterapia metronómica parece apresentar menos efeitos adversos nas células não endoteliais, como as células epiteliais ou os leucócitos (Biller *et al.*, 2016).

O objetivo da quimioterapia metronómica é a estabilização da doença ao invés da redução total do tumor (Biller *et al.*, 2016). As principais indicações envolvem o tratamento paliativo de neoplasias recidivantes, não extirpáveis cirurgicamente ou disseminadas, e o tratamento de doentes extremamente debilitados ou cujos tutores rejeitem as terapias convencionais (Barros & Repetti, 2015). Em comparação com a quimioterapia convencional, a metronómica apresenta, no geral, custos inferiores, maior facilidade de administração dos fármacos, por via oral, e um baixo perfil tóxico (Biller *et al.*, 2016).

O conhecimento acerca das doses e intervalos ótimos, combinações de fármacos ou os tipos de neoplasia em que melhor atuam é ainda escasso; no entanto, a quimioterapia metronómica é uma modalidade em crescimento em medicina veterinária. Na maioria dos estudos, o fármaco mais utilizado foi a ciclofosfamida, seguido pela lomustina ou o clorambucilo (Biller *et al.*, 2016). Estes quimioterápicos são muitas vezes combinados com inibidores de COX-2, como os anti-

inflamatórios não esteroides (AINEs), devido às suas propriedades anti-angiogénicas, anti-inflamatórias e analgésicas (Schmidt, 2013).

2.6. Inibidores da tirosina quinase

Os recetores de tirosina-quinase (c-Kit) são uma subclasse de recetores de fatores de crescimento, localizados na superfície celular, cuja ativação tem sido relacionada com o crescimento e a metastização tumoral, assim como o crescimento de vasos sanguíneos nos tumores (Bampi, 2014). Apesar de os fármacos inibidores da tirosina-quinase serem usados mais frequentemente em medicina humana, em medicina veterinária a sua aplicação é relativamente recente (London, 2009). O masitinib (Masivet[®]) e o toceranib (Palladia[®]) encontram-se licenciados para utilização na medicina veterinária para o tratamento de mastocitomas caninos, não extirpáveis cirurgicamente, ou em recidivas, no caso do toceranib (Cabral, 2013). Relativamente ao toceranib, os efeitos adversos mais comuns são toxicidade gastrointestinal (anorexia, diarreia e vómito), imunodepressão com indução de uma neutropénia suave, o que não parece predispor os animais a infeções bacterianas (London *et al.*, 2011).

3. Efeitos secundários dos fármacos quimioterápicos

Grande parte dos quimioterápicos utilizados em medicina veterinária é bem tolerada pelos animais de companhia (Gustafson & Page, 2013). É, contudo, importante que os tutores estejam informados acerca das repercussões da quimioterapia no dia a dia do seu animal (Vail, 2010). Vários autores referem que até 25% dos animais a realizar quimioterapia estarão sujeitos a efeitos adversos associados (Vail, 2009; Gustafson & Page, 2013). Vail (2010) descreve também que aproximadamente 3 a 5% dos casos irão implicar a hospitalização dos animais. De forma a minimizar estes efeitos, podem ser implementadas reduções de doses, alteração de fármacos ou adição de outros (Thamm & Vail, 2007; Vail, 2009).

Os quimioterápicos utilizados no tratamento de doentes oncológicos atuam, na sua grande maioria, em células com elevado índice mitótico, afetando, deste modo, não só as células neoplásicas como populações de células saudáveis de rápida divisão celular, incluindo células da medula óssea e do trato GI (Couto, 2015; Frimberger & Moore, 2017).

Estão também descritos efeitos secundários a nível dermatológico, cardiotoxicidade, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, neurotoxicidade, toxicidade pulmonar, toxicidade uroepitelial (e.g. cistite hemorrágica) ou síndrome de lise tumoral aguda, entre outros sinais gerais de prostração, depressão e apatia (Lana & Dobson, 2010; Couto, 2015; Frimberger & Moore, 2017). Podem ainda decorrer complicações imediatas na administração do tratamento incluindo extravasamento e consequente necrose perivascular, assim como reações de hipersensibilidade e anafilaxia (Morris & Dobson, 2001).

Segundo Gustafson e Page (2013), o perfil de toxicidade pode ser traçado de acordo com o tempo de ocorrência, dividindo-se em toxicidade aguda imediata, aguda retardada, crônica ou de efeito cumulativo. Em termos estatísticos, algumas raças de cães, incluindo Collies e cruzados, Cocker Spaniel, West Highland White Terrier e Antigo Cão de Pastor Inglês, parecem apresentar maior suscetibilidade à toxicidade aguda associada à quimioterapia, principalmente efeitos gastrointestinais e mielossupressão, do que a generalidade da população canina (Couto, 2015).

3.1. Toxicidade hematopoiética

Um dos efeitos secundários mais frequentes dos quimioterápicos citotóxicos é a mielossupressão, devido ao elevado índice mitótico das células precursoras hematopoiéticas residentes na medula óssea (Gustafson & Page, 2013). Ocorre diminuição das linhas celulares, podendo surgir anemia, leucopénia e/ou trombocitopénia (Tvedten & Raskin, 2012). A neutropénia e a trombocitopénia constituem as citopénias mais frequentes devido aos tempos de semivida mais curtos destas células na circulação sanguínea. O tempo de semivida dos neutrófilos varia entre 8 e 12 horas, já o das plaquetas pode ir até 5 dias (Tvedten & Raskin, 2012; Tizard, 2013). A anemia induzida pela quimioterapia é rara nos cães, já que os eritrócitos têm um tempo de semivida muito superior às outras linhas celulares, cerca de 90-120 dias (Couto, 2015).

A neutropénia constitui geralmente a citopénia dose limitante. O *nadir* de neutropénia (contagem celular mais baixa após quimioterapia), para a maioria dos agentes quimioterápicos, surge nos 6 a 8 dias após o tratamento, sendo que as contagens de neutrófilos retornam ao normal 36 a 72 horas depois. A carboplatina constitui uma exceção, com um *nadir* aos 14 dias pós-tratamento em cães (Frimberger & Moore, 2017).

A neutropénia é um efeito secundário dose-dependente, que pode ser clinicamente silencioso ou potencialmente fatal (Thamm & Vail, 2007). As possíveis infeções, após quimioterapia, podem ser originadas a partir de fontes endógenas, como a microbiota (pele, cavidade oral, trato respiratório, trato GI) ou de fontes exógenas (Wilson & Barton, 2012). A possibilidade de ocorrência de sepsis, a sequela mais grave da neutropénia, pode ser aumentada quando associada à toxicidade gastrointestinal, com consequente destruição da mucosa intestinal e aumento da permeabilidade epitelial, resultando num risco aumentado de translocação bacteriana a partir do trato gastrointestinal (Frimberger & Moore, 2017).

Assim, torna-se importante avaliar adequadamente a neutropénia em cada paciente. No geral, animais com contagens de neutrófilos acima de 3000 células/ μL , estão aptos a fazer quimioterapia. Quando os valores de neutrófilos estão entre 1000 e 1499 células/ μL , num animal sem sinais clínicos, é recomendada a realização de um hemograma após uma semana; os tutores são aconselhados a monitorizar a temperatura do cão em casa e acompanhá-lo à clínica em caso de febre, letargia ou anorexia. Antibióticos orais de largo espectro para aeróbios são recomendados em animais sem sinais clínicos com contagens de neutrófilos entre 500 e 999 células/ μL , e o

hemograma deve ser repetido em 2 a 3 dias. Contagens de neutrófilos abaixo das 500 células/ μL implicam a utilização de antibióticos de largo espectro para aeróbios por via oral e repetição do hemograma após 24 horas. Um animal febril e com contagens de neutrófilos inferiores a 3000 células/ μL deve ser hospitalizado, iniciar fluidoterapia e antibioterapia via IV (Wilson & Barton, 2012; Gustafson & Page, 2013). As Tabelas 4 e 5 resumem os graus de neutropenia e recomendações no seu manejo.

Tabela 4 – Graus de neutropenia, traduzido de VCOG – Veterinary Co-operative Oncology Group (2011)

	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5
Neutropenia	LIN – 1500/ μL	1000-1499/ μL	500-999/ μL	<500/ μL	Morte

LIN – Limite Inferior do Normal

Tabela 5 – Recomendações para o manejo da neutropenia após quimioterapia, traduzido de Smith (2014)

Contagem absoluta de neutrófilos	Sinais Clínicos	Recomendações terapêuticas
<3000 células/ μL	Ausentes	Adiar quimioterapia
<1000 células/ μL	Ausentes	Adiar quimioterapia, prescrever antibióticos orais
<3000 células/ μL	Febre, doença	Hospitalizar, antibióticos parenterais, tratamento de suporte

Em alguns pacientes, as citopenias podem ser encontradas antes de se iniciar tratamento, como o caso de pacientes com linfoma. Estes animais apresentam normalmente uma anemia não regenerativa, resultante de doença crônica, e trombocitopenia, por uma componente imunomediada ou resultado de infiltração da medula óssea. Em linfomas de alto grau e leucemias agudas, a mielotísica pode ocorrer e levar a citopenias ainda mais pronunciadas (Frimberger & Moore, 2017).

3.2. Toxicidade gastrointestinal

A toxicidade gastrointestinal é o efeito secundário mais frequentemente relatado após tratamento quimioterápico, sendo também o que suscita mais preocupação aos tutores. Pode manifestar-se como vômito, náusea, anorexia, diarreia e raramente constipação. A gravidade dos efeitos secundários varia consoante o paciente e pode variar individualmente, de uma sessão para outra. Para a maioria dos pacientes, a toxicidade gastrointestinal é ligeira a moderada e pode ser tratada sem hospitalização do animal (Navari, 2016; Frimberger & Moore, 2017).

A toxicidade pode resultar da lesão direta das células das criptas do epitélio intestinal ou da estimulação da zona dos quimiorrecetores de disparo (CRTZ), localizada na medula, via neurotransmissores como a serotonina ou a substância P que se ligam a recetores de 5-HT₃ e NK₁, respetivamente. O vômito agudo ocorre nas primeiras 24 horas após a administração e parece estar mais associado à serotonina; já o vômito retardado é mais frequente e está mais associado à substância P. A anorexia, náusea, vômito e diarreia, resultantes dos efeitos tóxicos nos enterócitos imaturos, ocorrem geralmente 1 a 5 dias após a administração (Frimberger & Moore, 2017).

Os antagonistas dos recetores 5-HT₃ atuam prevenindo a ligação da serotonina a estes recetores, localizados no trato gastrointestinal, CRTZ e centro de vômito. São particularmente utilizados no manejo do vômito agudo devido à sua atividade a nível do trato gastrointestinal. O antagonista mais utilizado em medicina veterinária é o ondansetron, que pode ser administrado por via SC, IV ou PO (Navari, 2016; Frimberger & Moore, 2017).

Os antagonistas dos recetores NK₁ previnem a ligação da substância P aos recetores NK₁, bloqueando a ativação do centro de vômito e, conseqüentemente, o reflexo de vômito. Funcionam tanto no vômito agudo, como no retardado. Para além disso, potenciam a ação de outros antieméticos. Em medicina veterinária, o mais utilizado é o *maropitant*, que pode ser administrado por via IV, SC ou PO, sendo muitas vezes utilizado com um intuito profilático, especialmente em animais tratados com doxorubicina e carboplatina (Rau, Barber & Burges, 2010; Navari, 2016).

Os antagonistas dos recetores de dopamina funcionam ao bloquear os recetores de dopamina no CRTZ. Também promovem o esvaziamento gástrico, aumento da pressão esofágica inferior e melhoram a motilidade intestinal. A metoclopramida é o fármaco mais utilizado desta classe (Ramsey, 2014; Navari, 2016).

O desenvolvimento de efeitos tóxicos gastrointestinais tem um impacto negativo na qualidade de vida do paciente e, para muitos tutores, pode ser emocionalmente desgastante. Para muitos pacientes, o adiamento da sessão ou a redução das doses dos quimioterápicos na sessão seguinte pode ser indicado. Contudo, alterações no protocolo podem reduzir o tempo de sobrevida destes animais. É assim importante um manejo médico profilático adequado que aposte na redução da ocorrência e gravidade dos sinais clínicos, mantendo a qualidade de vida do paciente e respetivo tutor (Gustafson & Page, 2013; Frimberger & Moore, 2017).

4. Protocolos quimioterápicos utilizados no HVR e HEV

Neste capítulo, são descritas as neoplasias mais comuns na presente dissertação e, para cada uma, os protocolos utilizados no Hospital Veterinário do Restelo (HVR) e no Hospital Escolar Veterinário (HEV) da FMV-UL.

4.1. Linfoma

O linfoma é a neoplasia hematopoiética mais frequentemente diagnosticada no cão e é definido como uma proliferação de células linfóides que afetam primariamente os linfonodos ou órgãos viscerais, como o baço ou o fígado (Vail, 2017). Pode variar quanto à apresentação clínica, estágio de desenvolvimento ou quanto às células envolvidas, incluindo a sua organização, morfologia e índice proliferativo (C. Peleteiro, comunicação pessoal, Outubro, 2015). A apresentação clínica mais frequente é o linfoma multicêntrico, mas existem outras formas como o linfoma mediastínico, abdominal (gastrointestinal, hepático, esplênico, renal), cutâneo, ocular, do sistema nervoso central ou pulmonar (Zandvliet, 2016). Relativamente ao estadiamento, estão classificados 5 estádios, que variam consoante o envolvimento de vários órgãos, com ou sem sinais clínicos. Quanto às células envolvidas, através da imunofenotipagem o linfoma pode caracterizar-se em linfoma de células B (70-75% dos casos) ou linfoma de células T (25-30% dos casos) (Vail, 2017).

O protocolo quimioterápico utilizado no tratamento de linfoma varia consoante o tipo de linfoma em questão. O mais frequentemente utilizado, tanto no HVR como no HEV, é o protocolo CHOP modificado, que representa um protocolo combinado de Ciclofosfamida (C), Doxorrubicina (H), Vincristina (O) e Prednisolona (P) (Tabela 6). Este protocolo é maioritariamente semanal e tem a duração de vinte e cinco semanas. As doses utilizadas são 200 mg/m² de ciclofosfamida (Endoxan®), 30 mg/m² de doxorrubicina (Doxorrubicina Accord®), 0,7 mg/m² de vincristina (Vincristina Teva®). Relativamente à prednisolona, é administrada PO em casa e a dose é 2 mg/kg SID na primeira semana, 1,5 mg/kg na segunda semana, 1 mg/kg na terceira semana e 0,5 mg/kg na quarta semana. Protocolos alternativos podem incluir a adição de l-asparaginase (Asparaginase medac®), como o L-CHOP, a substituição da ciclofosfamida por lomustina (Lomustine medac®), para casos de linfoma T canino, ou a utilização de prednisolona em monoterapia (Biller *et al.*, 2016; Vail, 2017).

Tabela 6 – Protocolo CHOP – UW-Madison modificado em 25 semanas (UW 25), adaptado de Vail, Pinkerton & Young (2013)

Semana	Quimioterápico	Posologia
1	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV
	Prednisolona	2 mg/kg, PO, SID
2	Ciclofosfamida	200-250 mg/m ² IV/ PO
	Prednisolona	1,5 mg/kg, PO, SID
3	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV
	Prednisolona	1 mg/kg, PO, SID
4	Doxorrubicina	30 mg/m ² IV
	Prednisolona	0,5 mg/kg, PO, SID
6	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV
7	Ciclofosfamida	200-250 mg/m ² IV/ PO
8	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV
9	Doxorrubicina	30 mg/m ² IV
11	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV
13	Ciclofosfamida	200-250 mg/m ² IV/ PO
15	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV
17	Doxorrubicina	30 mg/m ² IV
19	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV
21	Ciclofosfamida	200-250 mg/m ² IV/ PO
23	Vincristina	0,5-0,7 mg/m ² IV
25	Doxorrubicina	30 mg/m ² IV

4.2. Mastocitoma

Os mastocitomas estão entre os tumores mais frequentes no cão representando cerca de 16 a 21% de todas as neoplasias cutâneas. As localizações mais comuns são o flanco e o escroto. Quando presentes nas mucosas, estão geralmente associados a um comportamento mais agressivo. Para a avaliação do prognóstico e instituição correta do tratamento, é importante investigar o comportamento biológico do tumor, através de histopatologia. Existem dois esquemas de classificação de mastocitomas cutâneos em cães: a classificação de Patnaik com 3 graus, sendo o grau I o menos agressivo e o grau III o mais agressivo, e a classificação de Kiupel, mais recente, com dois graus (I – baixo grau e II – alto grau). Consoante os resultados de ambas as classificações, o tratamento pode consistir apenas na excisão cirúrgica ou na sua combinação

com quimioterapia citoredutora, antes ou depois da cirurgia (Sabattini, Scarpa, Berlato & Bettini, 2015; Biller *et al.*, 2016).

O protocolo mais utilizado no HVR e HEV consiste em vimblastina IV e prednisolona PO, é maioritariamente semanal e tem uma duração média de 10 semanas. As doses utilizadas são 2 mg/m² de vimblastina (Solblastin[®]) e 1 mg/kg SID de prednisolona durante 15 dias e depois 0,5 mg/kg SID durante 10 semanas (doses referentes ao HEV).

Num estudo de fase I efetuado por Robat *et al.* (2011), um protocolo combinado de toceranib (Palladia[®]) e vimblastina parece demonstrar uma atividade significativa em cães diagnosticados com mastocitoma, sugerindo uma atividade sinérgica ou aditiva quando os dois fármacos são associados. No HEV, este protocolo é uma alternativa frequentemente utilizada no tratamento quimioterápico de mastocitoma em cães.

4.3. Sarcomas

O osteossarcoma é o tumor primário ósseo mais frequente no cão. Pode afetar o esqueleto axial mas localiza-se, mais frequentemente, a nível do esqueleto apendicular e tem um grau de micrometastização nos pulmões superior a 95%. É aconselhada a amputação cirúrgica do membro afetado e tratamento quimioterápico pós-cirúrgico concomitante. Pode utilizar-se carboplatina (Carboplatina Kabi[®]) ou doxorrubicina IV a cada 3 semanas, ou uma combinação dos dois (Lane, Black & Wyatt, 2012; Biller *et al.*, 2016).

O hemangiossarcoma é um tumor maligno originário no endotélio vascular com um comportamento biológico muito agressivo. Cerca de 45 a 51% dos hemangiossarcomas localizam-se a nível esplénico, com uma taxa de metastização de quase 100%, sendo o fígado o órgão mais afetado. Nestes casos, é aconselhada a esplenectomia com biópsia de nódulos hepáticos e um tratamento sistémico com doxorrubicina IV, a cada 3 semanas. A quimioterapia metronómica com clorambucilo/ ciclofosfamida e AINEs pode ser utilizada em associação com a doxorrubicina ou isoladamente. O tempo de sobrevida dos pacientes é baixo, até 6 meses (Lana *et al.*, 2007; Biller *et al.*, 2016; Matsuyama, Poirier, Mantovani, Foster & Mutsaers, 2017).

4.4. Carcinomas

O carcinoma das glândulas dos sacos anais ocorre em animais mais velhos e tem um comportamento tipicamente maligno, com infiltração local e metastização frequentes para os linfonodos regionais e outras localizações. Após resseção cirúrgica, o tratamento quimioterápico pode variar entre carboplatina IV, a cada 3 semanas, mitoxantrona (Mitoxantrone Baxter[®]) ou quimioterapia metronómica com toceranib ou AINEs em associação ou isoladamente (Gustafson & Page, 2013; Biller *et al.*, 2016).

Os carcinomas mamários são os tumores mais frequentes em cadelas adultas inteiras. Aproximadamente 35 a 50% destes tumores são malignos e têm tendência a metastizar, por via

linfática, para linfonodos regionais e outros locais, como os pulmões. O tratamento de eleição é cirúrgico e consiste numa mastectomia total bilateral. Não está provado por estudos que a quimioterapia pode prolongar a esperança de vida destes animais mas é usada, frequentemente, quando o tumor tem um comportamento agressivo. Podem ser utilizados doxorubicina ou carboplatina IV a cada 3 semanas, ciclofosfamida oral, toceranib ou AINEs, em associação ou isoladamente (Biller *et al.*, 2016; Karayannopoulou & Lafioniatis, 2016; Smith, 2017).

O carcinoma das células de transição é o tumor mais frequente a nível do trato urinário inferior. Metastiza frequentemente no cão a nível dos linfonodos, pulmões, ossos e pele. Muitos carcinomas de células de transição são tratados com recurso à quimioterapia e, menos frequentemente, cirurgia ou radioterapia. Os protocolos quimioterápicos utilizados podem variar entre carboplatina IV, a cada 3 semanas, associada a AINEs, embora também possa ser administrada via intravesical, ou a utilização de mitoxantrona IV (Biller *et al.*, 2016; Borrego, 2017).

4.5. Melanoma oral

O melanoma é a neoplasia maligna oral mais frequente no cão. Está localizado na mucosa oral e a ulceração ocorre frequentemente, em particular nas lesões maiores. Pode ser melanocítico ou amelanocítico e apresenta, invariavelmente, um carácter maligno, tendo uma taxa de metastização para os linfonodos e pulmões de aproximadamente 80%. Uma mandibulectomia ou maxilectomia parciais são usualmente requeridas. O tratamento quimioterápico, apesar de pouco efetivo, é realizado com carboplatina IV, a cada 3 semanas (Bergman, 2007; Biller *et al.*, 2016). Um estudo de 2015, realizado por Teixeira, Gentile, Roman, Gioso e Dagli, confirma um papel potencial para c-Kit em melanomas orais caninos, principalmente nos amelanocíticos. Deste modo, é possível que o toceranib venha a ser um fármaco utilizado como tratamento quimioterápico em melanomas.

III – A quimioterapia antineoplásica e os seus efeitos no parasitismo gastrointestinal do cão

1. Objetivos

O presente estudo teve como objetivo geral determinar a prevalência de parasitas gastrointestinais em cães submetidos a quimioterapia antineoplásica. Como objetivos específicos pretendeu-se determinar a evolução desta prevalência, no mesmo grupo de canídeos, antes e durante o processo de quimioterapia, e caracterizar o estilo de vida de canídeos submetidos a protocolos quimioterápicos e respetivos cuidados veterinários no que respeita à desparasitação.

Os resultados foram integrados no conhecimento disponível da literatura, pretendendo-se com estes verificar possíveis relações entre os efeitos causados pelo parasitismo gastrointestinal e os efeitos secundários associados à quimioterapia. Assim, pretende-se facilitar, no futuro, a distinção e prevenção destes efeitos, sendo fornecida aos tutores mais informação, e com maior detalhe, acerca desta temática.







2. Material e Métodos

2.1. Composição da Amostra

A amostra de estudo compreendeu 45 indivíduos, pertencentes à subespécie *Canis lupus familiaris*, diagnosticados com doença oncológica e submetidos a diferentes protocolos de quimioterapia. Todos os cães realizaram quimioterapia no Hospital Veterinário do Restelo (HVR) ou no Hospital Escolar Veterinário (HEV) da FMV-UL, no período entre novembro de 2016 e setembro de 2017.

A amostra de estudo foi dividida em dois grupos, consoante a colheita de amostras coprológicas: o primeiro grupo (GI) era formado por 30 doentes oncológicos, avaliados em dois tempos distintos, correspondendo o subgrupo Gla a um momento pré-quimioterapia e o subgrupo Glb a um momento durante a quimioterapia, totalizando 60 amostras fecais analisadas. O segundo grupo (GII) era formado por 45 doentes oncológicos avaliados durante o processo de quimioterapia e incluiu os 30 indivíduos, no momento de avaliação correspondente ao Glb, e um grupo de 15 indivíduos em processo de quimioterapia, sem acompanhamento prévio, totalizando 45 amostras fecais analisadas (Tabela 7). No total, tendo em conta a sobreposição de 30 animais nos dois grupos, foram analisadas 75 amostras coprológicas.

Tabela 7 – Tabela representativa dos grupos amostrados (G = Grupo)

	Colheita prévia à quimioterapia (n)	Colheita durante a quimioterapia (n)	Total de amostras fecais analisadas por grupo
Grupo I (GI)	Gla (30) 	Glb (30) 	60 
Grupo II (GII)	_____	Glb (30) + G (15)  	45 

Além de analisadas as amostras coprológicas, foi efetuado um inquérito aos tutores de cada cão do estudo. Foram também consultados os históricos clínicos de cada animal recorrendo ao programa Qvet[®], versão 9.7 (2018), e os hemogramas realizados nos tempos correspondentes à colheita das análises fecais.

Para a inclusão de casos não houve distinção entre sexo, idade, raça ou diferentes tipos de neoplasias. Os tempos de colheita para cães a realizar quimioterapia tiveram em conta os períodos pré-patentes dos parasitas gastrointestinais mais frequentes do cão e foram, preferencialmente, superiores a 38 dias. Foram excluídos cães que morreram durante o tratamento e cuja colheita fecal não foi possível, cães cujos tutores não colaboraram com o

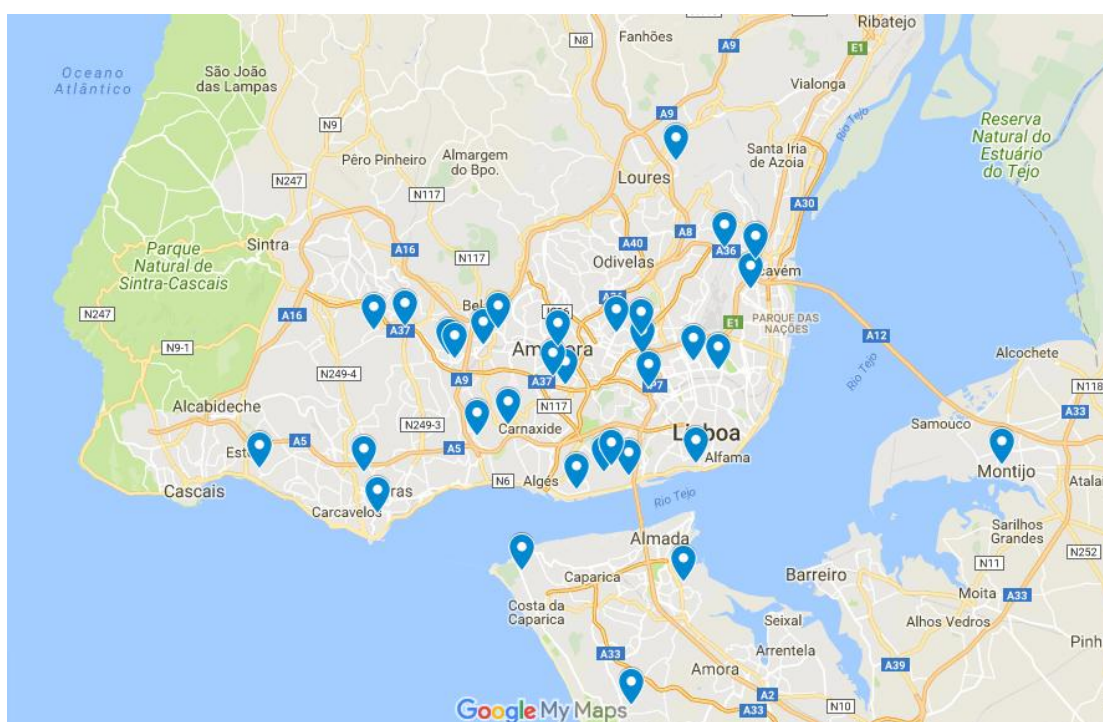
presente estudo ou cães que tiveram de interromper os protocolos quimioterápicos, por razões alheias ao presente estudo.

2.2. Área de estudo

Dos 45 canídeos amostrados, 43 eram residentes na Área Metropolitana de Lisboa (AML) e 2 no distrito de Évora. A Figura 2 demonstra a distribuição dos animais pertencentes à AML.

A AML engloba 18 municípios, divididos pelas duas margens do rio Tejo, e é habitada por quase 3 milhões de habitantes (Área Metropolitana de Lisboa, 2017). Os traços gerais do clima são-lhe conferidos pela repartição das chuvas e pelos contrastes de temperatura. A AML é, no conjunto, uma região seca com um clima temperado mediterrânico (Pereira, 2003).

Figura 2 – Amostras pertencentes à Área Metropolitana de Lisboa (n=43) (Google Maps)



O distrito de Évora engloba 14 municípios e é habitado por cerca de 160 000 habitantes (Instituto Nacional de Estatística, 2013). O clima é temperado mediterrânico com médias anuais de precipitação de diminuta dimensão e um período seco que, em regra, dura 3 a 4 meses (julho a setembro). A ocorrência de anos secos e chuvosos é aleatória (Monte ACE Alentejo, 2007).

2.3. Colheita e processamento das amostras coprológicas

As amostras fecais referentes ao GI foram colhidas com o consentimento dos tutores em dois momentos distintos: antes do início da quimioterapia e durante a mesma. O intervalo médio de dias entre colheitas foi superior a 38 dias, com uma média de 59 dias e uma variação entre 24 e

211 dias. Os casos em que os tempos de colheita foram menores do que 38 dias (n=3) corresponderam a animais com sinais clínicos altamente sugestivos de endoparasitoses gastrointestinais, com prognóstico reservado ou por não colaboração dos tutores. Relativamente ao GII, nos 15 canídeos incluídos adicionalmente, apenas foram colhidas amostras fecais durante o processo de quimioterapia.

Cada amostra fecal consistiu em mais de 5g de fezes frescas de um dia colhidas em casa, pelos tutores ou, no dia da sessão, pela equipa de trabalho, para um recipiente de plástico estéril. Após colheita, o material foi conservado a 4°C e submetido para o laboratório até 24-48h depois, para análise.

2.4. Técnicas laboratoriais

2.4.1. Exame macroscópico

Cada amostra fecal foi observada macroscopicamente para deteção de formas adultas de nematodes ou proglotídeos de cestodes. Outros parâmetros avaliados foram a consistência e a presença ou ausência de muco e/ ou sangue. A consistência das fezes foi caracterizada em fezes moldadas, fezes pastosas e diarreia.

2.4.2. Técnicas de Flutuação de Willis e Sedimentação Natural

Para cada amostra fecal, 5 a 10g de fezes são homogeneizados numa solução saturada de açúcar, utilizando uma vareta de vidro. A suspensão resultante é transferida, através de um passador e de um funil, para um tubo de ensaio até formar um menisco. Uma lamela é colocada no topo do tubo de ensaio, entrando em contacto com o menisco. Aguardam-se 15 minutos. Para a flutuação, retira-se a lamela, coloca-se numa lâmina de vidro e observa-se ao microscópio ótico, utilizando a ampliação de 100x e de 400x. Para a sedimentação, elimina-se o sobrenadante, retiram-se 2 a 3 gotas de sedimento e colocam-se numa lâmina de vidro. O sedimento é corado, diretamente na lâmina, com azul-de-metileno (opcional). Cobre-se a lâmina com uma lamela e observa-se ao microscópio ótico, utilizando a ampliação de 100x e de 400x (Thienpont, Rochette & Vanparijs, 1986; Braga, 2017)

Ambas as técnicas são baseadas na diferença de densidades dos ovos de parasitas gastrointestinais em relação à solução saturada de açúcar. Com a técnica de flutuação, o material parasitário observado é menos denso e, por isso, flutua para o topo do tubo de ensaio; pretende-se a deteção de ovos de nematodes, cestodes e oocistos de protozoários. Relativamente à técnica de sedimentação, o material parasitário observado é mais denso do que a solução saturada de açúcar e sedimenta no fundo do tubo de ensaio; pretende-se isolar ovos que não flutuam na técnica de flutuação (Zajac & Conboy, 2012; Bowman, 2014).

2.4.3. Técnica de Baermann

Para cada amostra fecal é retirada uma porção de fezes, correspondente a 10-15g, envolvida numa compressa de gaze e mergulhada dentro de um copo cônico com água tépida. Após um período de repouso de 24 horas, retira-se a compressa com o material fecal, elimina-se o sobrenadante e remove-se o sedimento com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. Coloca-se o sedimento entre lâmina e lamela e observa-se ao microscópio ótico, numa ampliação de 100x e 400x (Alho *et al.*, 2013; Morgado, 2016).

A técnica de Baermann é utilizada para isolar larvas L1 que se movem devido aos seus termotropismo e higrotropismo positivos. O calor e a humidade estimulam a motilidade larvar, o que lhes permite que se desloquem até à superfície do material fecal e sejam posteriormente arrastadas, a favor da gravidade, para o fundo do copo cônico. A técnica de Baermann constitui atualmente o método de eleição para pesquisa de L1 de metastrongilídeos (Alho *et al.*, 2013).

2.4.4. Esfregaço fecal

Após homogeneização, espalha-se uma pequena quantidade de fezes numa lâmina de microscópio, utilizando uma vareta de vidro. O esfregaço é deixado a secar, pelo menos 24 horas, e posteriormente corado, seguindo o protocolo de coloração Ziehl-Neelsen modificado. Após coloração, deve-se deixar a lâmina secar ao ar ou com folhas de papel e observar-se ao microscópio ótico, numa ampliação de 1000x, utilizando óleo de imersão (Casemore, Armstrong & Sands 1985; Braga, 2017). No presente estudo, foram observados, por cada esfregaço, no mínimo 50 campos.

Esta técnica é utilizada para pesquisa de quistos de *Giardia* sp. e oocistos de *Cryptosporidium* sp. (Manser *et al.*, 2014).

2.5. Inquérito aos tutores (Anexo 1)

Foi realizado um inquérito por cada tutor dos canídeos amostrados. Este inquérito incidiu principalmente sobre as características de vida do animal, a frequência e hábitos de passeio e cuidados veterinários relativos à desparasitação. Uma das considerações para o desenho do inquérito foi que não requeresse muito tempo por parte dos tutores. As questões foram maioritariamente fechadas, tendo havido algumas de escolha múltipla e resposta aberta (e.g. raça e idade do animal). Procurou-se que a linguagem fosse simples, objetiva e facilmente perceptível. A maioria dos inquéritos foi respondida com a presença da equipa de trabalho, sendo que os restantes foram realizados por via telefónica. O inquérito foi avaliado e verificado por cinco médicos veterinários: três com interesse na área da oncologia, um na área da parasitologia e outro na área da epidemiologia. Para a sua validação, em termos de compreensibilidade e duração, foi realizado um pré-estudo, numa amostra de pequenas dimensões.

2.6. Análise estatística

Os resultados das análises coprológicas, dos inquéritos realizados e dos históricos clínicos dos animais foram inseridos no Microsoft Excel 2007[®] e, posteriormente, importados e analisados pelo programa R, versão 3.4.3. (2017), usando a extensão R Commander.

3. Resultados

3.1. Identificação do animal

Grupo I

O GI era constituído por 30 canídeos. A média das idades foi de 9,8 anos e a mediana 9,5 anos, com valores entre 5 e 15 anos. Relativamente ao sexo, 16 canídeos eram machos, dos quais 7 inteiros e 9 castrados, e 14 eram fêmeas, das quais 9 inteiras e 5 esterilizadas. Estavam representados cães de raça indeterminada (n=12) e cães das raças Cocker Spaniel (2), Retriever do Labrador (2), Rafeiro do Alentejo (2), Rottweiler (2), Boxer (1), Bull Terrier (1), Bouledogue Francês (1), Caniche (1), Cão de Água (1), Dogue Alemão (1), Epagneul Bretão (1), Golden Retriever (1), Cão de Pastor Alemão (1) e Pequinês (1).

Grupo II

O GII era constituído por 45 canídeos. A média das idades foi de 9,9 anos e a mediana 9 anos, com valores entre 2 e 19 anos. Relativamente ao sexo, 26 canídeos eram machos, dos quais 12 inteiros e 14 castrados, e 19 eram fêmeas, das quais 11 eram inteiras e 8 esterilizadas. Estavam representados cães de raça indeterminada (n=16) e cães das raças Retriever do Labrador (5), Golden Retriever (4), Boxer (3), Cocker Spaniel (2), Cão de Pastor Alemão (2), Rafeiro do Alentejo (2), Rottweiler (2), Beagle (1), Bull Terrier (1), Bouledogue Francês (1), Caniche (1), Cão de Água (1), Dogue Alemão (1), Epagneul Bretão (1), Fox Terrier (1) e Pequinês (1).

3.2. Caracterização do estilo de vida do animal

Grupo I

Relativamente à habitação, 80% (24/30) dos cães viviam com o tutor e 20% (6/30) em canil. Quanto ao tipo de alimentação, 63,3% (19/30) dos cães eram alimentados com ração seca, 6,7% (2/30) com dieta caseira e 30% (9/30) com ração e dieta caseira combinadas. A maioria dos canídeos, 70% (21/30), vivia maioritariamente dentro de casa, enquanto 30% (9/30) vivia maioritariamente fora de casa. Relativamente à coabitação com outros animais, verificou-se positiva em 60% (18/30) dos cães amostrados, dos quais 66,7% (12/18) coabitavam apenas com cães, 22,2% (4/18) coabitavam apenas com gatos e 11,1% (2/18) coabitavam com ambas as espécies.

Grupo II

Relativamente à habitação, 77,8% (35/45) dos cães viviam com o tutor e 22,2% (10/45) em canil. Quanto ao tipo de alimentação, 66,7% (30/45) dos cães eram alimentados com ração seca, 6,7% (3/45) com dieta caseira e 26,7% (12/45) com ração e dieta caseira combinadas. A maioria dos canídeos, 68,9% (31/45), vivia maioritariamente dentro de casa, enquanto 31,1% (14/45) vivia

maioritariamente fora de casa. Relativamente à coabitação com outros animais, verificou-se positiva em 53,3% (24/45) dos cães amostrados, dos quais 70,8% (17/24) coabitavam apenas com cães, 16,7% (4/24) coabitavam apenas com gatos e 12,5% (3/24) com ambas as espécies.

3.3. Caracterização da frequência e dos hábitos de passeio

Grupo I

Relativamente ao acesso à rua, 83,3% (25/30) dos canídeos passeavam na rua, dos quais 68% (17/25) realizavam passeios diários, 20% (5/25) passeios semanais e 12% (3/25) realizavam passeios raramente. Dos animais que passeavam na rua, 28% (7/25) passeava apenas em locais urbanos, 28% (7/25) apenas em espaços verdes e 44% (11/25) em ambos os locais. Durante os passeios, 76% (19/25) dos canídeos contactava frequentemente com outros cães enquanto 24% (6/25) raramente tinha contacto.

Grupo II

Relativamente ao acesso à rua, 86,7% (39/45) dos canídeos passeavam na rua dos quais 66,7% (26/39) realizavam passeios diários, 20,5% (8/39) passeios semanais e 12,8% (5/39) realizavam passeios raramente. Dos animais que passeavam na rua, 20,5% (8/39) passeava apenas em locais urbanos, 33,3% (13/39) apenas em espaços verdes e 46,2% (18/39) em ambos os locais. Durante os passeios, 76,9% (30/39) dos canídeos contactava frequentemente com outros cães, 20,5% (8/39) raramente e 2,6% (1/39) nunca contactava.

3.4. Cuidados veterinários relativos à desparasitação interna e externa

Grupo I

Na amostra analisada, 43,3% (13/30) dos canídeos já apresentou parasitoses externas, pelo menos uma vez na vida, enquanto 3,3% (1/30) apresentou parasitoses internas e externas.

Relativamente à desparasitação interna, 70% (21/30) dos canídeos eram desparasitados regularmente. As especialidades mais utilizadas foram uma associação de praziquantel-pirantel-febantel (11/21 – 52,4%) e uma associação de praziquantel-febendazol (5/21 – 23,8%) cujas apresentações comerciais corresponderam a Drontal Plus® (10/11) ou Zipyran Plus® (1/11) e Caniquantel Plus®, respetivamente. Outros produtos utilizados incluíram a associação com lactonas macrocíclicas, como praziquantel-milbemicina oxima (Milbemax®), a associação de lufenuron-milbemicina (Program Plus®), a associação tópica de imidaclopride-moxidectina (Advocate®) ou o uso de praziquantel isolado (Tenil Vet®). A frequência de desparasitação está apresentada na Tabela 8.

A maioria dos tutores com outros canídeos em casa, 71,4% (10/14), desparasitava-os internamente; todos os tutores que faziam desparasitação interna nos canídeos doentes desparasitavam igualmente os cães coabitantes. A totalidade dos tutores com gatos (6/6) efetuava

a sua desparasitação interna; dois dos tutores faziam desparasitação interna no gato e não faziam no cão doente.

Relativamente à desparasitação externa, 76,7% (23/30) dos canídeos eram desparasitados regularmente de forma conveniente. As especialidades mais utilizadas foram fluralaner, via oral (11/23 – 47,9%) e uma associação de imidaclopride-permetrina, *spot-on* (8/23 – 34,8%), cujas apresentações comerciais corresponderam a Bravecto® e Advantix®, respetivamente. Metade dos animais desparasitados com Advantix® (4/23 – 17,4%) utilizou também coleiras de deltametrina (Scalibor®). Outras apresentações comerciais, com diferentes moléculas, foram utilizadas noutros canídeos (Activyl Plus®, Program Plus®, Vectra®). A frequência de desparasitação está apresentada na Tabela 8.

A maioria dos tutores com outros canídeos em casa, 71,4% (10/14), desparasitava-os externamente; todos os tutores que faziam desparasitação externa nos canídeos doentes desparasitavam, igualmente, os cães coabitantes. Relativamente aos tutores com gatos, 83,3% (5/6) efetuava a sua desparasitação externa; houve um tutor que não fazia desparasitação externa no gato mas fazia no cão doente.

Tabela 8 – Distribuição das frequências de Desparasitação Interna (DI) e de Desparasitação Externa (DE) no Grupo I (GI)

Frequência DI	Frequência	Frequência DE	Frequência
Trimestral	28,6% (6/21)	Mensal	26,1% (6/23)
Quadrimestral	57,1% (12/21)	Trimestral	56,5% (13/23)
Semestral	4,8% (1/21)	Sazonal	8,7% (2/23)
Anual	9,5% (2/21)	Anual	8,7% (2/23)

Grupo II

Na amostra analisada, 46,7% (21/45) já apresentou parasitoses externas pelo menos uma vez na vida, 4,4% (2/45) parasitoses internas e 4,4% (2/45) apresentou tanto parasitoses internas como externas.

Relativamente à desparasitação interna, 66,7% (30/45) dos canídeos eram desparasitados regularmente. As especialidades mais utilizadas foram Drontal Plus® (15/30 – 50%), seguida de Caniquantel Plus® (7/30 – 23,3%). Outros endoparasiticidas utilizados incluíram Advocate®, Milbemax®, Nexgard Spectra®, Program Plus®, Tenil Vet®, Zipyran Plus®. A frequência de desparasitação está apresentada na Tabela 9.

A maioria dos tutores com outros canídeos em casa, ou seja 80% (16/20), desparasitava-os internamente; dois dos tutores não faziam desparasitação interna nos cães doentes, mas faziam nos coabitantes. Todos os tutores com gatos (7/7) efetuavam a sua desparasitação interna; dois dos tutores faziam desparasitação interna no gato e não faziam no cão doente.

Relativamente à desparasitação externa, 82,2% (37/45) dos canídeos eram desparasitados regularmente de forma conveniente. As especialidades mais utilizadas foram Bravecto® (16/37 – 43,2%) seguida de Advantix® (14/37 – 37,8%). Metade dos canídeos desparasitados com Advantix® utilizou também Scalibor® (7/37 – 18,9%); três canídeos (8,1%) utilizaram Scalibor® isoladamente. Outros ectoparasiticidas utilizados incluíram Activyl®, Program Plus® e Vectra®. A frequência de desparasitação está apresentada na Tabela 9.

A maioria dos tutores com outros canídeos em casa, ou seja 80% (16/20), desparasitava-os externamente; todos os tutores que faziam desparasitação externa dos canídeos doentes desparasitavam, igualmente, os outros cães. Relativamente aos tutores com gatos, 71,4% (5/7) efetuava a sua desparasitação externa; houve dois tutores que não faziam desparasitação externa no gato mas faziam no cão doente.

Tabela 9 – Distribuição das frequências de Desparasitação Interna (DI) e de Desparasitação Externa (DE) no Grupo II (GII)

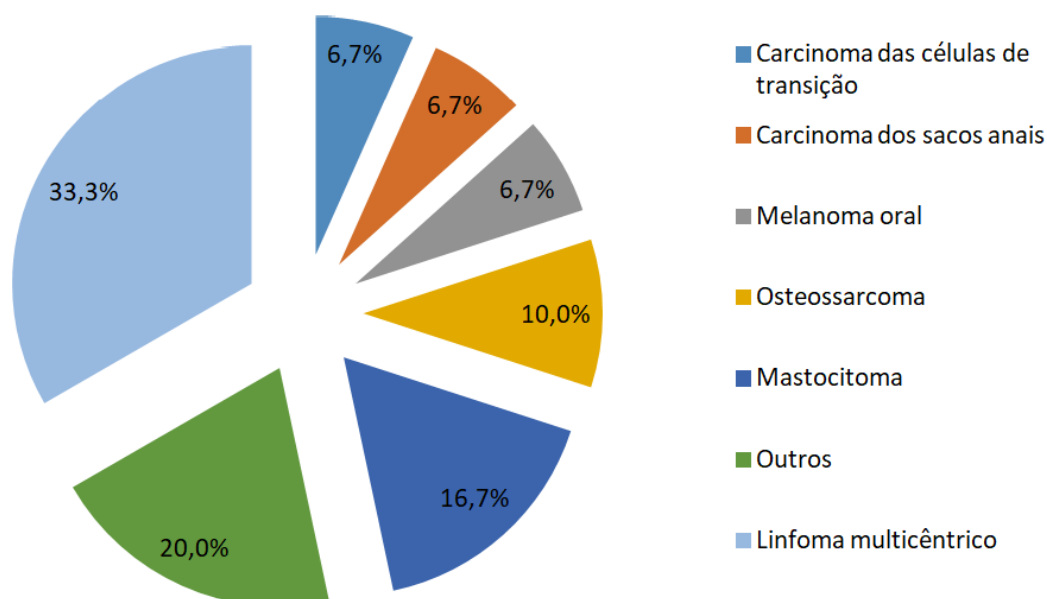
Frequência DI	Frequência	Frequência DE	Frequência
Trimestral	23,3% (7/30)	Mensal	32,4% (12/37)
Quadrimestral	66,7% (20/30)	Trimestral	51,4% (19/37)
Semestral	3,3% (1/30)	Sazonal	10,8% (4/37)
Anual	6,7% (2/30)	Anual	5,4% (2/37)

3.5. Distribuição das doenças neoplásicas

Grupo I

Foram identificadas, no GI, 13 doenças neoplásicas diferentes (Anexo 2). A neoplasia com maior representação foi o linfoma multicêntrico, com 33,3% (10/30) dos casos. Seguiram-se o mastocitoma e o osteossarcoma, representando 16,7% (5/30) e 10% (3/30) dos casos, respetivamente. O Gráfico 1 demonstra as frequências relativas observadas.

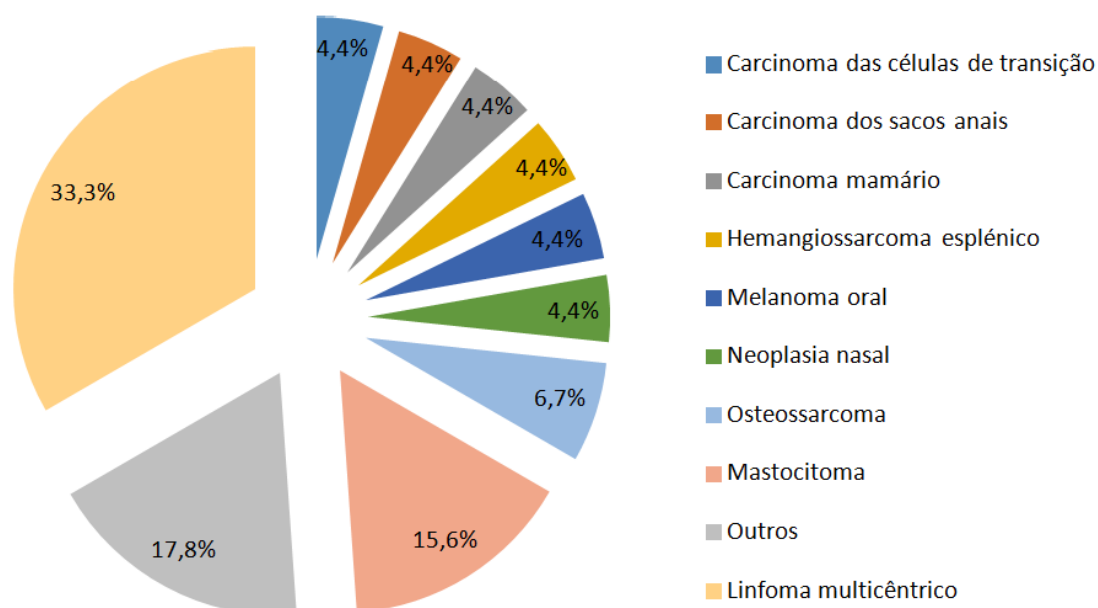
Gráfico 1 – Distribuição das doenças neoplásicas no Grupo I (GI) (n=30)



Grupo II

Foram identificadas, no GII, 18 doenças neoplásicas diferentes (Anexo 2). A neoplasia com maior representação foi o linfoma multicêntrico com 33,3% dos casos (15/45). Seguiram-se o mastocitoma e o osteossarcoma, representando 15,6% (7/45) e 6,7% (3/45) dos casos, respectivamente. O Gráfico 2 demonstra as frequências relativas observadas.

Gráfico 2 – Distribuição das doenças neoplásicas no Grupo II (GII) (n=45)



3.6. Distribuição dos protocolos de quimioterapia antineoplásica

Grupo I

Foram administrados 12 protocolos quimioterápicos diferentes, com oito compostos citostáticos diferentes: carboplatina, ciclofosfamida, doxorrubicina, l-asparaginase, lomustina, toceranib, vimblastina e vincristina.

O protocolo mais utilizado foi o CHOP IV, correspondendo a 30% dos casos (9/30), seguido pela Carboplatina IV + AINEs PO, com 26,7% dos casos (8/30), e pela Vimblastina IV + Prednisolona PO + Toceranib PO, com 13,3% (4/30). O Gráfico 3 demonstra a frequências absolutas obtidas; os protocolos incluídos em “Outros” estão documentados em anexo (Anexo 2).

Gráfico 3 – Distribuição dos protocolos de quimioterapia antineoplásica no Grupo I (GI) (n=30)

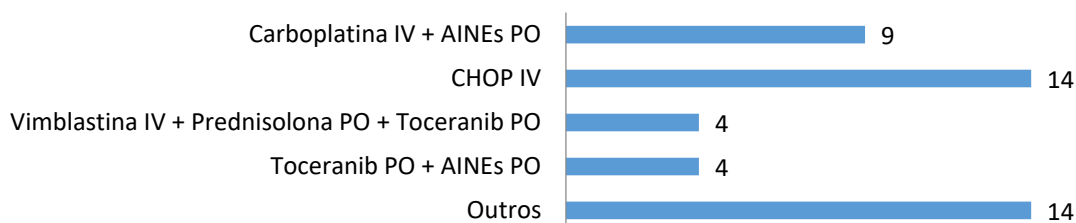


Grupo II

Foram administrados 15 protocolos quimioterápicos diferentes, com oito compostos citostáticos diferentes.

O protocolo mais utilizado foi o CHOP IV, com 31,1% (14/45) dos casos, seguido pela Carboplatina IV + AINEs PO com 20% (9/45) e pela Vimblastina IV + Prednisolona PO + Toceranib PO e Toceranib PO + AINEs PO, ambos com 8,9% dos casos representados (4/45). O Gráfico 4 demonstra as frequências absolutas obtidas; os protocolos incluídos em “Outros” estão documentados em anexo (Anexo 2).

Gráfico 4 – Distribuição dos protocolos de quimioterapia antineoplásica no Grupo II (GII) (n=45)



3.7. Caracterização dos sinais clínicos

Grupo I

No momento da primeira colheita (Gla), 20% (6/30) dos cães apresentou algum sinal clínico. Os sinais clínicos identificados foram anorexia, fezes pastosas, tosse e vômito, e as suas frequências estão representadas na Tabela 10. Houve associações de sinais clínicos em dois canídeos: anorexia e vômito (NA-7) (NA = Número de Amostra), fezes pastosas e tosse (NA-27).

Relativamente à segunda colheita (Glb), 33,3% (10/30) dos cães apresentaram sinais clínicos. Os sinais identificados foram anorexia, diarreia, fezes pastosas, tosse e vômito, e as suas frequências estão representadas na Tabela 10. Houve uma associação de sinais clínicos num caso com anorexia e vômito (NA-18).

Três canídeos manifestaram sinais clínicos, tanto na primeira como na segunda colheita, correspondentes aos NA-7, NA-10 e NA-27. Apenas um dos canídeos, NA-27, apresentou o mesmo sinal clínico nos dois momentos, correspondente a tosse.

Tabela 10 – Distribuição dos sinais clínicos no Grupo I (GI) (n=30)

Sinal Clínico	Gla	Glb
Anorexia	6,7% (2/30)	10% (3/30)
Diarreia	0% (0/30)	10% (3/30)
Fezes pastosas	6,7% (2/30)	6,7% (2/30)
Tosse	3,3% (1/30)	6,7% (2/30)
Vômito	10 % (3/30)	3,3% (1/30)

Gla: 30 doentes oncológicos no momento da colheita pré-quimioterapia

Glb: 30 doentes oncológicos no momento da colheita durante a quimioterapia.

Grupo II

No momento da colheita coprológica, 33,3% (15/45) dos cães apresentou algum sinal clínico. Os sinais clínicos identificados foram anorexia, diarreia, fezes pastosas, fezes com sangue, tosse e vômito, e as suas frequências estão representadas na Tabela 11. Houve associações de sinais clínicos em quatro casos: anorexia e vômito (NA-18); anorexia, fezes pastosas e vômito (NA-36); vômito e diarreia (NA-42); vômito e fezes com sangue (NA-45). Dois dos casos de diarreia correspondiam a diarreia com sangue (4,4%).

Tabela 11 – Distribuição dos sinais clínicos no Grupo II (GII) (n=45)

Sinal Clínico	GII
Anorexia	11,1% (5/45)
Diarreia	11,1% (5/45)
Fezes pastosas	6,7% (3/45)
Fezes com sangue	4,4% (2/45)
Tosse	4,4% (2/45)
Vômito	6,7% (3/45)

GII: 30 doentes oncológicos no momento da colheita durante a quimioterapia + 15 doentes oncológicos no momento da colheita durante a quimioterapia sem colheita prévia (n=45)

3.8. Leucograma

Grupo I

Relativamente aos leucogramas, 10% (3/30) dos canídeos apresentaram citopénias no leucograma no momento da colheita. No Gla, 6,7% (2/30) apresentaram algum tipo de citopénia no leucograma: um com uma contagem total de leucócitos baixa e linfopénia (NA-3) e outro com uma contagem total de leucócitos baixa e neutropénia de grau I (NA-8). Apenas um caso (3,3%) apresentou eosinofilia (NA-5). Em Glb, 10% (3/30) dos casos apresentaram algum tipo de citopénia: um com uma contagem total de leucócitos baixa e neutropénia (NA-2), outro com uma contagem total de leucócitos baixa, neutropénia e linfopénia (NA-3) e outro com monocitopénia e eosinopénia (NA-5).

As citopénias presentes, desde o início do protocolo de quimioterapia (Dia 0) até ao momento da segunda colheita (Glb), estão descritas na Tabela 12.

Tabela 12 – Frequência das citopénias ao longo do protocolo de quimioterapia no Grupo I (GI) (n=30)

Leucograma	Frequência
Contagem total de leucócitos baixa	23,3% (7/30)
Neutropénia	20% (6/30)
Linfopénia	3,3% (1/30)
Monocitopénia	13,3% (4/30)
Eosinopénia	3,3% (1/30)
Basopénia	0% (0/30)
Eosinofilia	3,3% (1/30)

Grupo II

Relativamente aos leucogramas, 8,9% (4/45) dos canídeos apresentaram citopénias no leucograma no momento da colheita: um com uma contagem total de leucócitos baixa e neutropénia (NA-2), um com uma contagem total de leucócitos baixa, neutropénia e linfopénia (NA-3), outro com monocitopénia e eosinopénia (NA-5) e outro com neutropénia apenas (NA-42). Todas as neutropénias foram de grau I.

As citopénias presentes, desde o início do protocolo de quimioterapia (Dia 0) até ao momento da colheita, estão descritas na Tabela 13.

Tabela 13 – Frequência das citopénias ao longo do protocolo de quimioterapia no Grupo II (GII) (n=45)

Leucograma	Frequência
Contagem total de leucócitos baixa	26,7% (12/45)
Neutropénia	24,4% (11/45)
Linfopénia	13,3% (6/45)
Monocitopénia	13,3% (6/45)
Eosinopénia	8,9% (4/45)
Basopénia	0% (0/45)
Eosinofilia	2,2% (1/45)

3.9. Terapêutica adjuvante: Antibioterapia

Grupo I

Em GIa, um canídeo (3,3%) terminou a administração de metronidazol (Flagyl®) 14 dias antes da colheita e foi desparasitado com um endoparasiticida de largo espectro um mês antes (NA-15).

Em GIb, dois canídeos (6,7%) estavam sob o efeito de metronidazol no momento da colheita (NA-10 e NA-14), um canídeo (3,3%) terminou metronidazol 16 dias antes da colheita (NA-15) e um canídeo (3,3%) terminou metronidazol 14 dias antes da colheita (NA-27).

Grupo II

No GII, cinco canídeos (11,1%) estavam sob o efeito de metronidazol no momento da colheita (NA-10, NA-14, NA-31, NA-34 e NA-40), um canídeo (2,2%) terminou metronidazol 16 dias antes da colheita (NA-15) e um canídeo (2,2%) terminou metronidazol 14 dias antes da colheita (NA-27).

3.10. Resultados laboratoriais

3.10.1. Exame macroscópico das fezes

Grupo I

A observação macroscópica das fezes não permitiu, em nenhuma das amostras, a identificação de formas adultas de nematodes ou proglotídeos de cestodes. No total, 60 amostras coprológicas foram analisadas. Relativamente à consistência, 11,7% (7/60) das amostras apresentaram-se não moldadas, das quais 5% (3/60) corresponderam a diarreias (todas referentes ao Glb) e 6,7% (4/60) a fezes pastosas (2/30 em Gla e 2/30 em Glb). Um dos casos de diarreia no Glb, NA-10, encontrava-se positivo para endoparasitas gastrointestinais.

Grupo II

A observação macroscópica das fezes não permitiu, em nenhuma das amostras, a identificação de formas adultas de nematodes ou proglotídeos de cestodes. No total, 45 amostras coprológicas foram analisadas. Relativamente à consistência, 17,8% (8/45) das amostras apresentaram-se não moldadas, das quais 11,1% (5/45) corresponderam a diarreias e 6,7% (3/45) corresponderam a fezes pastosas. Relativamente à presença de sangue nas fezes, 4,4% (2/45) das amostras encontravam-se positivas. Um dos casos de diarreia, NA-10, encontrava-se positivo para endoparasitas gastrointestinais.

3.10.2. Exame microscópico das fezes

Grupo I

A prevalência global de amostras fecais positivas a parasitas gastrointestinais foi de 3,3% (2/60), ambos pertencentes ao Glb, com uma prevalência de 6,7% (2/30). A prevalência global de amostras para nematodes foi de 1,7% (1/60) e, no Glb, 3,3% (1/30), com identificação da espécie *Toxascaris leonina* (Figura 3). Quanto aos protozoários, a prevalência global foi de 3,3% (2/60) e, no Glb, 6,7% (2/30), com identificação do género *Giardia* (Figura 4). Foi observada uma associação parasitária no NA-10, correspondendo a uma prevalência de 1,7% (1/60) e, no Glb, 3,3% (1/30), com associação entre *Toxascaris leonina* e *Giardia* sp. Os resultados estão descritos na Tabela 14.

Grupo II

A prevalência global de amostras fecais positivas a parasitas gastrointestinais foi de 4,4% (2/45). A prevalência global de amostras positivas para nematodes foi de 2,2% (1/45), com identificação da espécie *Toxascaris leonina* (Figura 3). Quanto aos protozoários, a prevalência global foi de 4,4% (2/45), com identificação do género *Giardia*. (Figura 4). Foi observada uma associação parasitária no NA-10, com uma prevalência de 2,2% (1/45), com associação entre *Toxascaris leonina* e *Giardia* sp. Os resultados estão descritos na Tabela 14.

Figura 3 – Ovos de *Toxascaris leonina* (original)

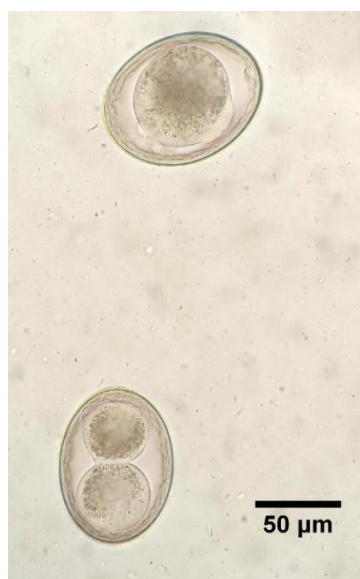


Figura 4 – Quistos de *Giardia* sp. (original)

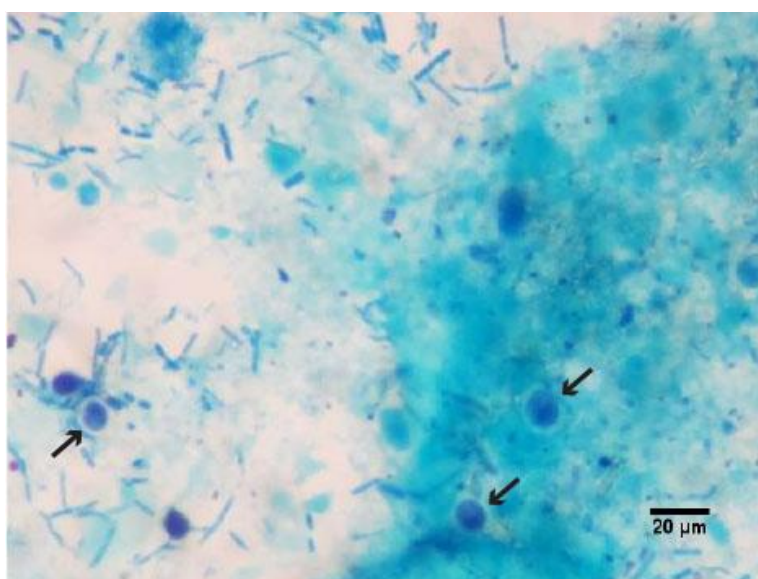


Tabela 14 – Distribuição dos parasitas gastrointestinais nos grupos de doentes oncológicos estudados

Espécie	Gla n (%)	Glb n (%)	GII n (%)
<i>Giardia</i> sp.	0 (0)	2 (6,7)	2 (4,4)
<i>Toxascaris leonina</i>	0 (0)	1 (3,3)	1 (2,2)
Resultado positivo	0 (0)	2 (6,7)	2 (4,4)
Resultado negativo	30 (100)	28 (93,3)	43 (95,6)

Gla: 30 doentes oncológicos no momento da colheita pré-quimioterapia

Glb: 30 doentes oncológicos no momento da colheita durante a quimioterapia

GII: 30 doentes oncológicos no momento da colheita durante a quimioterapia + 15 doentes oncológicos no momento da colheita durante a quimioterapia sem colheita prévia (n=45)

3.11. Resultados referentes a cães positivos a parasitas gastrointestinais

Os dados recolhidos, referentes aos cães com análise coprológica parasitária positiva (NA-10 e NA-15), estão descritos na Tabela 15.

Tabela 15 – Dados recolhidos referentes aos cães com análise coprológica parasitária positiva

Número de Amostra	10	15
Parasitas observados	<i>Giardia</i> sp. + <i>Toxascaris leonina</i>	<i>Giardia</i> sp.
Doença neoplásica	Linfoma multicêntrico	Carcinoma dos sacos anais
Protocolo quimioterápico	L-CHOP	Toceranib
Idade	12 anos	12 anos
Sexo	Masculino	Masculino
Raça	Cocker Spaniel	Cocker Spaniel
Habitação	Cão de canil	Cão com tutor
Alimentação	Ração seca	Ração seca + Dieta caseira
Vive maioritariamente	Dentro de casa	Dentro de casa
Coabita com outros animais	Não	Sim
Acesso à rua	Sim	Sim
Frequência de passeios	Rara	Frequente
Locais de passeios	Locais urbanos	Locais urbanos + Espaços verdes
Contacto com outros animais	Raro	Frequente
Desparasitação interna	Não	Sim
Produto	NA	Caniquantel Plus
Frequência	NA	Trimestral
Parasitoses internas anteriores	Não sabe	Sim
Desparasitação externa	Não	Sim
Produto	NA	Bravecto
Frequência	NA	Trimestral
Parasitoses externas anteriores	Não sabe	Sim
Intervalo entre colheitas	40	24
Sinais clínicos (Gla)	Vómito	Fezes pastosas
Sinais clínicos (Glb)	Diarreia	Ausentes
Hemograma (Gla)	Sem alterações	Sem alterações
Hemograma (Glb)	Sem alterações	Sem alterações
Antibiótico (Gla)	Não	Terminou Metronidazol 14 dias antes
Antibiótico (Glb)	Não	Terminou Metronidazol 16 dias antes

4. Discussão

4.1. Identificação dos animais

A idade média dos canídeos em ambos os grupos foi aproximadamente 10 anos, sendo toda a amostra composta por animais adultos (com mais de 1 ano de idade). Constituindo uma média de idade correspondente a animais geriátricos, existe uma maior debilidade do sistema imunitário face a animais jovens. Relativamente à raça, os dois canídeos com resultados positivos na análise coprológica pertenciam à raça Cocker Spaniel. Segundo Couto (2015), Cocker Spaniel é uma das raças mais predispostas a efeitos adversos agudos associados à quimioterapia, como sinais gastrointestinais e mielossupressão.

4.2. Estilo de vida dos animais

A grande maioria dos canídeos vivia com tutor, sendo a restante amostra constituída por animais pertencentes a um canil, em Lisboa. Relativamente ao tipo de alimentação, verificou-se que todos os animais eram alimentados com ração seca e/ou dieta caseira cozinhada (e.g. arroz com frango). Nenhum animal era alimentado com alimentos crus, um fator de risco para adquirir infeções parasitárias, seja pela ingestão de hospedeiros intermediários ou paraténicos infetados. A maioria dos canídeos coabitava com outros animais, os quais eram maioritariamente cães. Verificou-se que, quando existia mais do que um canídeo por tutor, os hábitos de desparasitação eram, em regra, os mesmos. Apenas no GII, dois tutores responderam não desparasitar internamente os canídeos que estavam a fazer quimioterapia, mas que desparasitavam os outros canídeos em casa. Esta decisão foi justificada pela má condição clínica dos animais em questão, associada ao avançado estado de doença que apresentavam.

4.3. Frequência e hábitos de passeio

A maioria dos canídeos tinha acesso à rua e, desses cães, a maioria realizava passeios diários, dos quais, cerca de 80%, contactava frequentemente com cães desconhecidos. O facto de não se conhecer o estado parasitológico desses animais pode constituir um risco de transmissão de infeções parasitárias. Comparando estes dados com os de estudos realizados em animais saudáveis na mesma região (Matos, Alho, Owen, Nunes & Madeira de Carvalho, 2015; Morgado, 2016) sugere-se que, apesar de a presente amostra constituir animais doentes a realizar quimioterapia, a frequência e hábitos de passeio não diferem substancialmente. Em relação aos locais de passeio, no GI o número de canídeos que passeava em locais urbanos foi semelhante ao número de canídeos que passeava em espaços verdes; já no GII o número de canídeos que passeava em espaços verdes foi ligeiramente superior. Segundo Matos *et al.* (2015), os espaços verdes, que incluem no presente estudo também terrenos baldios, abandonados ou descampados, são aqueles onde os tutores procedem menos vezes à recolha de fezes do seu

cão. Também num estudo realizado por Smith, Semeniuk, Kutz & Massolo, em 2014, foi observada uma associação positiva entre a prevalência de parasitas gastrointestinais, maioritariamente protozoários, e o uso de parques públicos por cães. Estes factos, associados à circulação de animais errantes, provavelmente sem medidas sanitárias instituídas, fazem dos espaços verdes, quando em comparação a locais urbanos, uma mais provável fonte de contaminação ambiental, no que respeita a infeções parasitárias. É importante transmitir aos tutores a urgente necessidade de recolha de fezes dos seus canídeos em espaços públicos. Apesar de os dois cães com amostras coprológicas positivas terem acesso à rua, dada a baixa prevalência de resultados positivos, não foi avaliada uma associação entre os resultados laboratoriais e a frequência e hábitos de passeio.

4.4. Cuidados veterinários relativos à desparasitação interna e externa

Tanto no GI como no GII, cerca de metade dos canídeos já tinham historial de parasitismo, predominantemente por ectoparasitas. Estes resultados estão em concordância com o estudo realizado por Matos *et al.*, em 2015. Contudo, é de referir que mais canídeos podem ter tido infeções parasitárias anteriores subclínicas e/ou que não tenham sido diagnosticadas. Relativamente a endoparasitas, apenas um canídeo apresentou concomitantemente historial de parasitismo interno e externo e um resultado coprológico positivo no decorrer do estudo (NA-15). Este resultado foi obtido na segunda colheita, correspondente ao momento em quimioterapia, tendo a primeira sido negativa. Este facto evidencia que, apesar de já ter historial com endoparasitoses anteriores, o resultado positivo na segunda colheita poderá corresponder a uma nova infeção parasitária, adquirida durante o tempo em que o animal foi submetido a quimioterapia.

No geral, nos dois grupos, cerca de 70% dos canídeos fazia prevenção regular com endoparasiticidas (70% no GI e 66,7% no GII). Comparativamente a outros estudos, na região de Lisboa, em que as percentagens de animais desparasitados internamente corresponderam a 96,2% (Morgado, 2016), 95,1% (Nabais, 2008) e 86,5% (Matos *et al.*, 2015), a percentagem de canídeos desparasitados neste estudo é baixa. Esta diferença pode dever-se ao facto de, no presente estudo, serem considerados como “não desparasitados” animais cujo protocolo de desparasitação não estava completo: animais não desparasitados, questionários incompletos e desparasitações irregulares. Por outro lado, os canídeos analisados correspondiam a uma população global com idade mais avançada em relação aos outros estudos. Segundo Matos *et al.* (2015), os canídeos de idade avançada eram o grupo de animais desparasitado com menor frequência ou que não era desparasitado de todo. Outro estudo, realizado por Gates e Nolan, em 2009, nos EUA, relatou que animais com mais de 10 anos idade são, a seguir ao grupo de animais com menos de 6 meses de idade, os mais afetados por infeções por endoparasitas. Este facto pode ser explicado por uma maior debilidade da resposta imunitária nos animais geriátricos

ou por os tutores não manterem hábitos de desparasitação regulares ao assumirem, erradamente, que os canídeos se tornam resistentes às infeções parasitárias ao longo da vida (Gates & Nolan, 2009).

As associações de praziquantel-pirantel-febantel e de praziquantel-febendazol foram as mais utilizadas nos dois grupos, sendo as frequências quadrimestral e trimestral as mais frequentes. Ambas constituem associações de largo espectro no que toca às helmintoses gastrointestinais e podem ser administradas, com boa margem de segurança, na amostra envolvida. A ESCCAP (2017b) recomenda uma desparasitação trimestral (quatro vezes por ano) para redução da libertação de ovos por vermes intestinais; a frequência de desparasitação pode passar a tratamentos mensais se os canídeos conviverem com crianças ou indivíduos imunodeprimidos. Não havendo referência à frequência de administração recomendada em animais imunodeprimidos, a recomendação trimestral foi aplicada nos canídeos deste estudo. Deste modo, apenas um em cada quatro canídeos era desparasitado de forma contínua e adequada, tendo em conta a frequência e antiparasitário utilizados. Relativamente aos princípios ativos dos endoparasiticidas mais utilizados, apesar de terem indicação contra *Giardia* spp., outros protozoários que infetam o cão e são frequentes em Portugal, como *Cystoisospora* spp. e *Cryptosporidium* spp., não são abrangidos neste espectro. Ainda relativamente a *Giardia* spp., tendo em conta o curto período pré-patente que apresenta, quando em comparação com os helmintes, a frequência de desparasitação interna trimestral poderá não ser a mais conveniente como prevenção. É de referir ainda que, para o tratamento de *Giardia* spp., segundo as bulas dos antiparasitários mais utilizados neste estudo (Drontal Plus® e Caniquantel Plus®), é recomendada a administração dos antiparasitários durante três dias consecutivos, o que não acontece quando são utilizados de modo preventivo. A realização de exames coprológicos de rotina, além de permitir a caracterização dos parasitas gastrointestinais mais prevalentes em canídeos domésticos, poderia facilitar o diagnóstico de possíveis protozooses, não abrangidas pelo espectros dos antiparasitários ou cuja frequência de desparasitação não fosse a adequada. A identificação parasitária promoveria, assim, a seleção de um tratamento antiparasitário mais adequado.

Relativamente à frequência de desparasitação interna, foram observadas algumas diferenças relativamente a estudos anteriores na região de Lisboa. Segundo Morgado (2016), as frequências de administração mais frequentes em cães com tutor foram trimestral (51,4%) e semestral (27,8%); segundo Nabais (2008), em canídeos assistidos num hospital veterinário em Almada, as frequências mais frequentes foram quadrimestral e semestral (25% cada uma), seguidas pela trimestral (23%); segundo Matos *et al.* (2015), a frequência semestral (30,6%) foi a mais frequente, seguida pela quadrimestral (22,4%) e trimestral (16,9%). No presente estudo, a frequência quadrimestral constituiu a maioria dos casos, correspondendo a uma prevalência de 57,1% nos canídeos do GI e 66,7% no GII. Seguiu-se a frequência trimestral com 28,6% dos

canídeos no GI e 23,3% no GII. Nos dois grupos, apenas existia um animal que fazia desparasitação interna semestralmente e dois anualmente. Estes resultados sugerem que o grupo de tutores abrangidos neste estudo tem um maior cuidado relativamente à frequência de desparasitação, comparativamente aos tutores de outros estudos, estando os presentes resultados mais próximos da frequência aconselhada pela ESCCAP (2017b).

Relativamente a ectoparasitocidas, nos dois grupos cerca de 80% dos canídeos fazia prevenção regular (76,7% no GI e 82,2% no GII). As moléculas mais utilizadas foram fluralaner e uma associação de imidaclopride-permetrina; nesta última, em metade dos casos foi associada, ainda, a utilização de coleiras de deltametrina. A frequência de desparasitação foi maioritariamente trimestral, na qual se inseriram os animais desparasitados com fluralaner, seguida pela frequência mensal, representada, na sua maioria, por tratamentos com a associação de imidaclopride-permetrina. Ambos os ectoparasitocidas, quando administrados na frequência correta, conferem um espectro de atuação ideal contra os principais ectoparasitas. É de referir a importância do controlo de ectoparasitas neste estudo, não só para um melhor entendimento dos hábitos de desparasitação na amostra em estudo, mas também porque os ectoparasitas podem constituir importantes vetores de endoparasitas, assumindo como exemplo concreto os piolhos e pulgas como hospedeiros intermediários de *Dipylidium caninum* no cão (Bowman, 2014).

4.5. Doenças neoplásicas e protocolos de quimioterapia

A neoplasia mais comum neste estudo foi linfoma, seguida de mastocitoma, o que está de acordo com diversos estudos realizados no HEV nos últimos anos (Lima, 2011; Cunha, 2014; Silveira, 2016). As restantes neoplasias constituíram, na sua maioria, sarcomas e carcinomas. Deste modo, os protocolos convencionais mais frequentes foram o CHOP IV, associado a linfoma, Vimblastina IV + Prednisolona PO, associado a mastocitoma, e Carboplatina IV, indicado primariamente para osteossarcoma mas utilizado em vários protocolos quimioterápicos para outras neoplasias (e.g. carcinoma de células de transição, melanoma, carcinoma mamário ou carcinoma dos sacos anais, no presente estudo). A maioria destes quimioterápicos está incluída no grupo de fármacos antineoplásicos com ação mielossupressora mais elevada e/ou no grupo de fármacos mais frequentemente associado a náusea e vômito em cães (Frimberger & Moore, 2017). São de mencionar dois agentes quimioterápicos, a doxorubicina e vimblastina, que pertencem simultaneamente aos dois grupos. No entanto, não foi objetivo deste estudo a análise detalhada dos efeitos tóxicos de cada fármaco citostático isoladamente. Relativamente à quimioterapia metronómica, seja em uso isolado ou em associação, o quimioterápico mais utilizado foi Toceranib, dirigido para mastocitoma e utilizado noutras neoplasias como carcinoma de sacos anais, carcinoma de células escamosas, quemodectoma e carcinoma nasal aplásico. Ainda se conhece pouco sobre os seus efeitos mielossupressores, no entanto, pode ser associado a efeitos gastrointestinais como anorexia, vômito e diarreia (Frimberger & Moore, 2017).

4.6. Sinais clínicos

Relativamente à manifestação clínica foram avaliados possíveis sinais, predominantemente gastrointestinais, que pudessem ser relacionados com algum tipo de parasitose interna, mas também com efeitos secundários da quimioterapia. A avaliação de possíveis efeitos adversos dos quimioterápicos foi realizada de forma conjunta, quer se tratasse de quimioterapia convencional ou quimioterapia metronómica, dado o baixo número de casos de quimioterapia metronómica.

Na colheita referente ao período de quimioterapia (Glb, GII), um em cada três canídeos analisados, apresentou sinais clínicos. A anorexia e a diarreia foram os sinais mais frequentes, seguidos pelo vômito, fezes pastosas e tosse. Relativamente à associação com endoparasitoses, apenas um dos dois canídeos parasitados (NA-10), demonstrou sinais clínicos no momento da colheita, correspondentes a diarreia. Neste animal, a diarreia poderia justificar-se por estar parasitado com *Giardia* sp. e *Toxascaris leonina*. Nos restantes animais que manifestaram sinais clínicos e sem infeções parasitárias diagnosticadas, os sinais poderiam ser devidos à toxicidade gastrointestinal associada aos agentes quimioterápicos ou à própria neoplasia em si.

Comparando os sinais clínicos expressados por animais a fazer quimioterapia (Glb) com os mesmos em animais antes de iniciar o protocolo (Gla), verificou-se uma maior expressão no primeiro grupo. Os sinais clínicos observados em Gla deveram-se, provavelmente, ao processo neoplásico em si. Alguns canídeos apresentavam afeções concomitantes, não relacionadas com o processo neoplásico, como doença cardíaca, leishmaniose, dermatite atópica ou doença do foro neurológico, que poderiam também expressar algum dos sinais clínicos observados. No GI, três canídeos manifestaram sinais gastrointestinais em ambas as colheitas. O facto de os três canídeos terem sido diagnosticados com uma neoplasia particularmente agressiva, linfoma multicêntrico, e estarem a realizar um protocolo quimioterápico combinado, CHOP IV, frequentemente associado a maiores riscos de toxicidade, poderia justificar os resultados observados.

4.7. Leucograma

Faro *et al.*, em 2008, avaliaram efeitos hematológicos do protocolo COP (ciclofosfamida, vincristina e prednisolona) em cães, tendo havido uma diminuição significativa nas contagens globais de leucócitos, que se deveu principalmente a neutropénias. Já noutro estudo efetuado por Lima (2011), realizou-se um teste de comparação de medianas relativo aos parâmetros avaliados em hemogramas de 9 canídeos, na primeira e terceira sessões de quimioterapia. Desse teste, concluiu-se que os valores do número total de leucócitos e dos eosinófilos poderiam ser influenciados pela quimioterapia.

Deste modo, foram consultados, no presente estudo, os leucogramas dos canídeos a realizar quimioterapia, com o intuito de avaliar o estado do seu sistema imunitário, no momento da colheita

de amostras. Cerca de 10% dos canídeos apresentaram citopénias no leucograma, representadas maioritariamente por contagens totais de leucócitos baixas e neutropénias, frequentemente associadas, na bibliografia existente, a infeções bacterianas oportunistas (Smith, 2014). Apenas um animal apresentou linfopénia e outro eosinopénia, o que poderia, eventualmente, facilitar a infeção por parasitas. No entanto, não foi possível retirar conclusões relativamente aos leucogramas, já que nenhum dos animais com citopénias, no momento da colheita, teve diagnósticos parasitológicos positivos.

A eosinofilia ocorre com muita frequência em infeções por helmintes. Ganesan (2016), realizou um estudo, em pacientes humanos, no qual destaca a eosinofilia como um importante indicador de infeções por ancilostomatídeos, ainda que o exame coprológico seja negativo. Deste modo, foi avaliada neste estudo a presença de animais com eosinofilia no momento da colheita durante a quimioterapia, não tendo havido nenhum canídeo nesta condição. Nos dois grupos, apenas um canídeo, NA-5, apresentou um leucograma com eosinofilia, acompanhada por uma elevação de todas as outras linhas celulares brancas, no dia 0 do protocolo, não tendo revelado análises coprológicas positivas em nenhum momento. Este animal tinha sido diagnosticado com linfoma, em estágio V, pelo que, os resultados no leucograma poderiam ser explicados por uma resposta inflamatória associada ao linfoma (Zandvliet, 2016; Sun *et al.*, 2018).

Os restantes parâmetros no hemograma não foram avaliados neste estudo. As anemias secundárias à quimioterapia são pouco frequentes sendo que, quando ocorrem, é cerca de 3 a 4 meses após a administração de agentes quimioterápicos, correspondendo a tempos de colheita muito superiores aos efetuados neste estudo. Relativamente às plaquetas, apesar de a trombocitopénia constituir uma alteração hematológica possível de ocorrer após tratamento com quimioterápicos, considerou-se que não era um efeito relevante a avaliar neste trabalho, tendo em atenção que é um rastreio parasitológico.

4.8. Terapêutica adjuvante: Antibioterapia

A antibioterapia é frequentemente utilizada de modo empírico em animais a realizar quimioterapia, nomeadamente quando têm sinais clínicos gastrointestinais (e.g. diarreia) ou quando têm contagens absolutas de neutrófilos inferiores a 1000 células/ μL . Nos casos de manifestações clínicas gastrointestinais, frequentemente é utilizado o metronidazol (Flagyl[®]), cujo espectro abrange anaeróbios e também protozoários como *Giardia* spp. Por esta última razão, foi avaliada utilização deste antibiótico na presente amostra, em momentos prévios à colheita. No GIb, dois canídeos estavam a fazer metronidazol no momento da colheita, já no GII, o número aumentou para cinco canídeos. Deste modo, estes animais, à partida, não apresentariam infeções por *Giardia* spp. ao exame coprológico. Relativamente aos canídeos com resultado positivo para endoparasitas, um deles (NA-15), terminou antibioterapia com metronidazol 16 dias antes, o que,

tendo em conta o PPP de *Giardia* spp. (4-16 dias), poderia ter influenciado os resultados laboratoriais obtidos, não tendo sido isso, contudo, verificado.

4.9. Prevalência global parasitária

A prevalência global do estudo foi de 0% no GIa, 6,7% no GIb e 4,4% no GII, correspondendo a duas amostras positivas, dos mesmos animais, nos dois grupos (GIb e GII). Os dois animais infetados revelaram resultados positivos para o protozoário *Giardia* sp.; um deles estava ainda parasitado com ascarídeos da espécie *Toxascaris leonina*, correspondendo a uma prevalência de 3,3% no GIb e 2,2% no GII.

Assim sendo, *Giardia* sp. foi o parasita mais prevalente neste estudo, o que não é surpreendente, dado o facto de ser um dos parasitas gastrointestinais mais frequentes nos animais domésticos, a nível mundial (Smith, 2014). Como já referido anteriormente, estudos recentes, em território nacional, demonstraram prevalências de *Giardia* spp. em canis desde aproximadamente 20 a 60% dos animais (Ferreira, 2011; Lebre *et al.*, 2011; Pitaes *et al.*, 2015; Braga, 2017). Em Lisboa, foi ainda observada uma prevalência de 11,4% em amostras fecais colhidas de parques para cães (Ferreira *et al.*, 2017).

Relativamente a *Toxascaris leonina*, foram obtidas prevalências de 1 a 6% em canis de Portugal (Félix, 2015; Braga, 2017; Melo, 2017). Em Lisboa, 1,1% das amostras fecais de parques caninos estavam parasitadas com *T. leonina* (Ferreira *et al.*, 2017). O facto de ser um ascarídeo presente no solo dos parques da Área Metropolitana de Lisboa constitui um importante fator de risco na infeção parasitária.

No decorrer da realização desta dissertação, não foram encontrados estudos que relacionassem os efeitos da quimioterapia antineoplásica no parasitismo gastrointestinal dos canídeos, pelo que foi consultada bibliografia semelhante relativa a medicina humana. Nestes estudos, foram avaliados pacientes humanos a realizar quimioterapia, tendo havido grandes variações nas prevalências obtidas de parasitas gastrointestinais, com valores entre 10 e 90%. Fatores como a localização geográfica, a população amostrada ou as técnicas laboratoriais utilizadas, podem ter contribuído para esta variação.

No Brasil, um estudo realizado por Silva, Silva, Fernandes e Oliveira (2011), analisou 18 pacientes humanos a realizar quimioterapia nos quais 83,3% das amostras coprológicas apresentaram resultados positivos. Os parasitas mais frequentemente identificados foram *Giardia duodenalis*, seguida por *Ascaris lumbricoides* e Ancilostomatídeos, com prevalências de 66,7%, 50% e 22,2%, respetivamente. As principais associações encontradas foram *Giardia duodenalis* e *Ascaris lumbricoides*, representando uma prevalência de 38,5% dos resultados totais positivos. Um estudo realizado por Pacheco *et al.* (2014) obteve uma prevalência global de parasitas de 47,1% em amostras coprológicas de 70 crianças. Destas crianças, todas foram diagnosticadas com doença oncológica, sendo que 87,2% estava sob processo de quimioterapia. As infeções por protozoários

foram diagnosticadas com maior frequência, incluindo infecções por *Giardia duodenalis* (8,6%) e por *Cryptosporidium* spp. (2,9%), já *Ascaris lumbricoides* e Ancilostomatídeos apresentaram prevalências de 7,1%, cada um. Ainda no Brasil, um estudo efetuado por Jeske *et al.* (2017), em 73 pacientes humanos a realizar quimioterapia, revelou uma prevalência global parasitária de 61,6%, apresentando um número de infecções por protozoários e helmintes relativamente semelhante. Os parasitas mais frequentes foram *Giardia duodenalis* e *Ascaris lumbricoides*, com prevalências de 26,6% e 33,3%, respetivamente. Outras formas parasitárias identificadas foram *Cryptosporidium* spp. (13,3%) e *Cystoisospora belli* (4,4%), *Taenia* spp. (6,6%), *Strongyloides stercoralis* (4,4%) e *Trichuris trichiura* (2,2%).

Estudos realizados na Eurásia revelaram prevalências inferiores de parasitoses gastrointestinais, comparativamente aos estudos previamente citados. Na Turquia, Uysal *et al.* (2017), avaliaram 91 pacientes leucémicos, em processo de quimioterapia, tendo obtido uma prevalência global de parasitas gastrointestinais de 9,9%. A totalidade dos parasitas identificados foi constituída por protozoários, sendo *Cryptosporidium* spp. o mais prevalente, com um valor de 6,4%. Na Arábia Saudita e no Irão, estudos realizados por Sanad *et al.* (2014) e Berahmat *et al.* (2017), respetivamente, analisaram pacientes a realizar quimioterapia, direcionados apenas para a pesquisa de protozoários gastrointestinais. *Cryptosporidium* spp. revelou-se o parasita mais prevalente, em ambos os estudos. Berahmat *et al.* obtiveram ainda uma prevalência de 3% para *Giardia duodenalis*. Também no Irão, num estudo efetuado por Kazemi *et al.* (2014), analisaram-se 200 pacientes em quimioterapia, com uma prevalência global parasitária de 18,5%. Prevalências relativas a *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium parvum*, *Isospora belli* e *Strongyloides stercoralis* assumiram valores de 3,5%, 3%, 0,5% e 0,5%, respetivamente. Já na Malásia, numa amostra de 50 crianças sujeitas a quimioterapia, Menon, Abdullah, Mahamud e Singh (1999) obtiveram uma prevalência total de 42%. Os resultados positivos foram constituídos maioritariamente por helmintes, nomeadamente *Ascaris lumbricoides* e *Trichuris trichiura*, com prevalências de 22% e 24%, respetivamente. Os protozoários *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. apresentaram prevalências de 6% e 2%, respetivamente.

Infeções por protozoários foram observadas em todos os estudos, com particular destaque para *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp., que foram detetados na maioria dos trabalhos. Já as infecções por helmintes foram também frequentes tendo sido atribuídas, maioritariamente, a nematodes pertencentes às famílias Ascarididae, Ancylostomatidae ou Trichuridae. Na presente dissertação, foram identificados *Giardia* sp. e uma espécie de nematode, pertencente à família Ascarididae, *Toxascaris leonina*, pelo que os grupos de parasitas encontrados estão em concordância com a bibliografia de medicina humana. A baixa prevalência observada na presente dissertação, comparativamente a estudos no Homem, deve-se, provavelmente, ao facto de as práticas de desparasitação serem um hábito comum em medicina veterinária, quando comparada à humana. Outros fatores como o estilo de vida dos animais, com um maior acesso a possíveis

fontes de infeção, podem ter influência na prevalência parasitária. Apenas num dos estudos citados anteriormente foram descritas as práticas de desparasitação realizadas nos pacientes humanos. Silva *et al.* (2011) relataram que apenas 5 dos 18 indivíduos analisados no seu estudo realizaram tratamentos antiparasitários antes do início da quimioterapia, correspondendo a 27,8% da amostra em estudo. Quando comparado com a prevalência de 70% de canídeos desparasitados regularmente na presente dissertação, os valores são expressivamente diferentes, corroborando as considerações anteriormente feitas. É também importante referir o facto de os estudos em medicina humana terem sido realizados em países em desenvolvimento e/ou maioritariamente com climas tropicais, o que poderá, teoricamente, predispor a prevalências de infeções parasitárias elevadas, em comparação a países desenvolvidos com clima temperado, como o caso de Portugal.

A baixa prevalência global parasitária observada no presente estudo, comparativamente a estudos realizados em canídeos saudáveis, pode dever-se, principalmente, aos factos de os tutores destes canídeos constituírem uma população particularmente preocupada com cuidados veterinários e/ou da totalidade dos canídeos amostrados constituir uma população sem animais jovens, sendo a carga parasitária, excreção de ovos e infeções ativas menos elevadas, comparativamente a populações de cães jovens, avaliadas noutros estudos (Nabais, 2008; Matos *et al.*, 2015; Morgado, 2016).

Relativamente às técnicas utilizadas, falsos negativos devem ser considerados, especialmente quando são utilizadas técnicas de diagnóstico com diferentes sensibilidades, em vários dos estudos citados. Por outro lado, a ausência de elementos parasitários na grande maioria da amostra pode expressar uma ausência real de infeção parasitária ou presença de uma infeção com baixa carga parasitária, não detetada com as técnicas utilizadas. Para além disso, em alguns parasitas, como é o caso de *Giardia* spp., a libertação de quistos é intermitente, o que dificulta o seu diagnóstico, podendo resultar em prevalências inferiores às reais. Nesta investigação, dada a indisponibilidade dos tutores e/ou a condição clínica dos animais amostrados apenas foram colhidas fezes de um dia. A prescrição de três exames coprológicos, em três dias consecutivos, deve elevar, de forma considerável, a sensibilidade das presentes técnicas (ESCCAP, 2011).

4.10. Considerações finais

Canídeos com doença oncológica em processo de quimioterapia podem representar um importante grupo de risco no desenvolvimento de infeções oportunistas, nomeadamente endoparasitoses gastrointestinais. Estudos realizados nos últimos 20 anos, em medicina humana, indicam que, além dos efeitos citotóxicos pretendidos, os compostos quimioterápicos podem apresentar efeitos potentes sobre o sistema imunitário dos possíveis hospedeiros, muitas vezes já comprometidos pelo processo neoplásico em si, como é o caso do linfoma (Rudrapatna, 1997; Botero *et al.*, 2003; Sanad, 2014). O risco de infeção torna-se ainda maior em função da dose,

frequência ou modo de administração de cada quimioterápico. No que respeita aos canídeos, é também importante identificar comportamentos de risco associados aos hábitos de passeio, contacto com animais não desparasitados, alimentação com consumo de alimentos crus ou hábitos de desparasitação, pela parte dos tutores.

Tendo em conta o desenho experimental do estudo, seria interessante aumentar a dimensão da amostra de canídeos em avaliação. Apesar de haver uma boa casuística de casos oncológicos em ambos os hospitais (HVR e HEV), nem todos os casos estão indicados para quimioterapia; quando o estão, nem sempre é uma alternativa acessível para todos os tutores. Também a elevada mortalidade, associada aos processos neoplásicos apresentados, e a não adesão de parte dos tutores ao estudo, constituem limitações. Por outro lado, em estudos futuros, poderia agrupar-se, separadamente, os canídeos a realizar quimioterapia convencional e metronómica e, dentro de cada grupo, estudar cada protocolo isoladamente. A fraca representatividade de alguns fármacos em relação a outros pode conduzir a uma análise menos precisa dos resultados obtidos. Tendo em conta os exames coprológicos positivos e os protocolos mais frequentes neste estudo, o protocolo CHOP IV, utilizado em linfoma canino, e o protocolo metronómico com Toceranib PO, poderiam ser boas alternativas a investigar mais atentamente. A frequência de recolha de amostras poderia também ser aumentada, sendo essa uma limitação presente neste estudo, dado que são animais a atravessar um período delicado no que toca a cuidados clínicos e, frequentemente, se torna fácil o esquecimento da recolha das amostras coprológicas pelos tutores. Ainda assim, tendo em conta a bibliografia referente aos períodos pré-patentes dos parasitas em análise e os efeitos adversos agudos provocados pela quimioterapia antineoplásica, o intervalo médio de dias entre colheitas foi considerado satisfatório. Num estudo realizado por Henry *et al.* em 2001, na área da virologia, em canídeos a realizar quimioterapia foram efetuadas titulações de anticorpos, a partir dos soros, em dois momentos distintos (antes e durante a quimioterapia) com uma média de 81 dias de intervalo entre colheitas (variação entre 30 e 272 dias), sendo valores próximos dos do presente estudo. Relativamente aos parâmetros monitorizados, poderia anotar-se também, no futuro, o peso dos animais, importante indicador do seu estado nutricional que pode estar alterado, seja por infeção parasitária ou por doença neoplásica. Estudos realizados em canídeos, diagnosticados com linfoma, a realizar o protocolo COP (Ciclofosfamida, Vincristina, Prednisolona), indicam uma diminuição dos linfócitos B, ao longo do protocolo, e uma variação dos níveis de linfócitos T circulantes. Não foi concluído se estas variações seriam devidas à neoplasia ou ao protocolo quimioterápico (Winnicka, Jagielski, Hoffmann-Jagielska & Lechowski, 2002; Walter, Biller, Lana, Bachand & Dow, 2006). Tendo em conta a importância destas populações de linfócitos no combate a infeções parasitárias seria interessante, em estudos futuros, a sua quantificação e eventual correlação com possíveis infeções parasitárias associadas, não tendo sido este um dos objetivos do presente trabalho. Ainda na análise laboratorial das amostras coprológicas, considerando as elevadas prevalências

de protozoários nos estudos de medicina humana, poderiam realizar-se futuramente outros testes adicionais, como IFD ou PCR por exemplo, e fazer uma pesquisa mais detalhada de protozoários intracelulares que infetam o cão como *Leishmania infantum* e *Toxoplasma gondii*. Relativamente aos animais positivos, tendo em conta que os dois eram representantes da raça Cocker Spaniel, suscita a possibilidade de futuros estudos poderem determinar se as características intrínsecas, associadas a uma maior suscetibilidade desta raça aos efeitos tóxicos da quimioterapia antineoplásica, podem representar, de facto, alterações importantes no parasitismo destes canídeos, face a outras raças. Por último, seria interessante estudar um grupo de canídeos com doença oncológica a realizar quimioterapia, sem aplicação prévia de tratamento antiparasitário. Estes animais seriam assim sujeitos a colheitas e análises coprológicas regulares, de modo a concluir se, de facto, a quimioterapia antineoplásica e a toxicidade associada poderiam predispor a infeções parasitárias gastrointestinais em canídeos, tal como observado em medicina humana. Caso os resultados laboratoriais fossem positivos, poderia também identificar-se quais seriam os parasitas gastrointestinais mais frequentes e respetiva carga parasitária.

5. Conclusão

Os resultados globais relativos à pesquisa de parasitas gastrointestinais revelaram dois animais positivos, nos dois grupos, com prevalências globais de 3,3%, no GI, e 4,4%, no GII. Foi identificada *Giardia* sp. nos dois canídeos, um protozoário potencialmente zoonótico, e o nematode *Toxascaris leonina*, apenas num dos canídeos. Os dois animais apenas obtiveram resultados positivos no momento da colheita durante a quimioterapia, tendo apresentado resultados anteriores negativos. Tendo em consideração as limitações do estudo e a baixa prevalência global parasitária, não foi possível provar uma associação positiva entre canídeos sob regime de quimioterapia e infeções por parasitas gastrointestinais. Deste modo, a presente dissertação assumiu, predominantemente, um carácter descritivo, para futuros estudos na área. Contudo, outras conclusões foram possíveis. A prevenção com antiparasitários demonstrou ser eficiente, ainda que o grupo de canídeos amostrado representasse um grupo de animais, à partida, mais suscetível a nível imunitário, fosse pelo protocolo quimioterápico a que estavam sujeitos, pela doença neoplásica em si ou por doenças concomitantes. Através dos resultados dos inquéritos, verificou-se que a presente amostra de canídeos, apesar da sua condição clínica, apresenta, na sua generalidade, estilos de vida e hábitos de passeio semelhantes a uma população de canídeos saudáveis, com pequenas diferenças. Finalmente, tendo em conta os locais do inquérito, HVR e HEV, e a amostra de estudo, encontram-se representados tutores de animais de companhia que têm, na sua grande maioria, os devidos cuidados veterinários com o seu animal, não só em acompanhamento clínico, como a nível dos hábitos de desparasitação. É importante uma boa relação entre o médico veterinário e o tutor para que haja uma promoção contínua de boas práticas. A administração adequada de antiparasitários em canídeos domésticos, tendo em conta exames coprológicos de rotina, a utilização de trela em via pública e a recolha de fezes e manutenção de um ambiente limpo, constituem importantes medidas preventivas na transmissão recíproca de doenças parasitárias entre canídeos e entre canídeos e o Homem, principalmente se os animais apresentarem doenças concomitantes, como as do foro oncológico, cuja quimioterapia tem elevado potencial imunodepressor.

Bibliografia

- Acedo, C.S., Quílez, J. & Cacho, E. (1999). *Cestodosis: teniosis, equinococosis, dipilidiosis, mesocestoidosis y difilobotriosis*. In M. Cordero del Campillo & F. A. Rojo Vázquez (Eds.), *Parasitología Veterinaria*. Madrid, Spain: McGraw-Hill Interamericana.
- Alho, A.M., Nabais, J. & Madeira de Carvalho, L. M. (2013). A importância da Técnica de Baermann na clínica de pequenos animais. *Clínica Animal*, 1 (3): 28-31.
- Alho, A.M., Seixas, R., Rafael, T. & Madeira de Carvalho, L.M. (2010). Formas larvares dos helmintas: o elo mais forte na desparasitação do cão e do gato. *Veterinary Medicine*, 12 (71): 33-46.
- Alho, A.M., Schnyder, M., Schaper, R., Meireles, J., Belo, S., Deplazes, P. & Madeira de Carvalho, L.M. (2016). Seroprevalence of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and parasite-specific antibodies in dogs from Portugal. *Parasitol Res.*, 115 (7): 2567-2572.
- Área Metropolitana de Lisboa (2017). Acedido em Dez. 27, 2017, disponível em <https://www.aml.pt/index.php>
- Ballweber, L. R. (2001). *The Practical Veterinarian - Veterinary Parasitology* (1ª Edição ed.). Woburn, Massachusetts, USA: Butterworth-Heinemann.
- Ballweber, L.R., Xiao, L., Bowman, D.D., Kahn, G. & Cama, V.A. (2010). Giardiasis in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. *Trends in Parasitology*, 26 (4): 180-199.
- Bampi, V.F. (2014). *Efeitos do maleato de sunitinibe e da quimioterapia metronômica na microangioarquitetura do carcinoma oral de células escamosas em bolsa jugal de hamster sírio*. Tese de Pós-Graduação em Medicina e Ciências da Saúde. Porto Alegre: Faculdade de Medicina – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
- Baños, P. D., Baños, N. D. & Pelayos, M. P. M. (1999). *Nematodoses: Toxocarosis, Toxascariosis, Ancilostomatidosis, Tricuriosis, Estrongiloidosis, Espirocercosis y Olulanosis*. In M. Cordero del Campillo & F. A. Rojo Vázquez (Eds.), *Parasitología Veterinaria*. Madrid, Spain: McGraw-Hill Interamericana.
- Barros, V.T.M. & Repetti, C.S.F. (2015). Quimioterapia metronômica em cães: revisão de literatura. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 110 (593-594): 49-53.
- Berahmat, R., Mahami-Oskoue, M., Rezamand, A., Spotin, A., Aminisani, N., Ghoyounchim, R. & Madadi, S. (2017). *Cryptosporidium* infection in children with cancer undergoing chemotherapy: how important is the prevention of opportunistic parasitic infections in patients with malignancies? *Parasitology Research*, 116 (9): 2507-2515.
- Bergman, P. (2007). Canine Oral Melanoma. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 22 (2): 55-60.
- Biller, B., Berg, J., Garrett, L., Ruslander, D., Wearing, R., Abbott, B., Patel, M., Smith, D. & Bryan, C. (2016). 2016 AAHA Oncology Guidelines for Dogs and Cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 52 (4): 181-204.
- Borrego, J.F. (2017). Urogenital and Mammary Gland Tumors. In S.J. Ettinger & E.C., Feldman, *Textbook of veterinary internal medicine*. (8ª Edição ed., pp. 2037-2046). Missouri: Saunders Elsevier. Vol. 2.

- Botero, J.H., Castaño, A., Montoya, M.N., Ocampo, N.E., Hurtado, M.I. & Lopera, M.M. (2003). A preliminary study of the prevalence of intestinal parasites in immunocompromised patients with and without gastrointestinal manifestations. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 45 (4): 197-200.
- Bowman, D.D. (2014). *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. (10ª Edição ed.). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Braga, M.I.F.L. (2017). *Prevalência e sazonalidade de parasitoses gastrointestinais, cardiovasculares e hemáticas em cães do distrito de Beja, Portugal*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Cabral, A.S. (2013). *Depuração Plasmática de Creatinina Exógena em Cães Submetidos a Protocolos Terapêuticos de Quimioterapia*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- CAPC, Companion Animal Parasite Council. (2007). *Current advice on parasite control: Intestinal Parasites – Lungworms*. Acedido em Jun. 5, 2017, disponível em: <https://www.capcvet.org/guidelines/lungworms/>
- CAPC, Companion Animal Parasite Council. (2016a). *Current advice on parasite control: Intestinal Parasites – Ascarid*. Acedido em Mai. 28, 2017, disponível em: <https://www.capcvet.org/guidelines/ascarid/>
- CAPC, Companion Animal Parasite Council. (2016b). *Current advice on parasite control: Intestinal Parasites – Cestodes*. Acedido em Jun. 26, 2017, disponível em: <https://www.capcvet.org/guidelines/cestodes/>
- CAPC, Companion Animal Parasite Council. (2016c). *Current advice on parasite control: Intestinal Parasites – Coccidia*. Acedido em Jun. 20, 2017, disponível em: <https://www.capcvet.org/guidelines/coccidia/>
- CAPC, Companion Animal Parasite Council. (2016d). *Current advice on parasite control: Intestinal Parasites – Hookworms*. Acedido em Mai. 26, 2017, disponível em: <https://www.capcvet.org/guidelines/hookworms/>
- CAPC, Companion Animal Parasite Council. (2017a). *Current advice on parasite control: Intestinal Parasites – Cryptosporidium*. Acedido em Jun. 18, 2017, disponível em: <https://www.capcvet.org/guidelines/cryptosporidium/>
- CAPC, Companion Animal Parasite Council. (2017b). *Current advice on parasite control: Intestinal Parasites – Echinococcus spp.* Acedido em Jun. 28, 2017, disponível em: <https://www.capcvet.org/guidelines/echinococcus-spp/>
- CAPC, Companion Animal Parasite Council. (2017c). *Current advice on parasite control: Intestinal Parasites – Giardia*. Acedido em Jun. 24, 2017, disponível em: <https://www.capcvet.org/guidelines/giardia/>
- Casemore, D.P., Armstrong, M. & Sands, R.L. (1985). Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *Journal of Clinical Pathology*, 38 (12): 1337-1341.
- Cesare, A.D. & Traversa, D. (2014). Canine angiostrongylosis: recent advances in diagnosis, prevention, and treatment. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 2014 (5): 181-192.

- Conboy, G. (2009). Cestodes of dogs and cats in North America. *Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice*, 39 (6): 1075-1090.
- Couto, C. (2015). Oncology. In R. Nelson & C. Couto, *Small Animal Internal Medicine* (5ª Edição ed., pp. 1126-1200). Missouri: Mosby Elsevier.
- Cunha, E.S.G. (2014). *Avaliação dos efeitos secundários dos fármacos quimioterápicos em animais de companhia – Estudo retrospectivo*. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Datz, C.A. (2010). Noninfectious Causes of Immunossupression in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice*, 40 (3): 459-467.
- Elmslie, R.E., Glawe, P. & Dow, S.W. (2008). Metronomic Therapy with Cyclophosphamide and Piroxicam Effectively Delays Tumor Recurrence in Dogs with Incompletely Resected Soft Tissue Sarcomas. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22 (6): 1373-1379.
- ESCCAP, European Scientific Counsel Animal Parasites. (2011). Guideline 6: Control of intestinal protozoa in dogs and cats (1st ed.).
- ESCCAP, European Scientific Counsel Animal Parasites. (2017a). Guideline 1: Worm Control in Dogs and Cats (3rd ed.).
- ESCCAP, European Scientific Counsel Animal Parasites (2017b). Worm Control in Dogs and Cats (2nd ed.).
- Faro, A.M., Daleck, C.R., Santana, Á.E., Nardi, A.B., Motta, F.R. & Eurides, D. (2008). Avaliação hematológica em cães submetidos ao tratamento quimioterápico com sulfato de vincristina, prednisona e ciclofosfamida. *Ars Veterinaria*, 24 (1): 1-8.
- Félix, L.I.B. (2015). *Parasitoses gastrointestinais e cardiopulmonares em cães. Estudo epidemiológico em canis de Portugal continental*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Ferreira, A., Alho, A.M., Otero, D., Gomes, L., Nijse, R., Overgaauw, P.A.M., Madeira de Carvalho, L.M. (2017). Urban Dog Parks as Sources of Canine Parasites: Contamination Rates and Pet Owner Behaviours in Lisbon, Portugal. *Journal of Environmental and Public Health*, Vol. 2017, Article ID 5984086: 1-7.
- Ferreira, F.S., Pereira-Baltasar, P., Parreira, R., Padre, L., Vilhena, M., Távora T. L., Atouguia J. & Centeno-Lima, S. (2011). Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. *Veterinary Parasitology*, 179 (1-3): 242-245.
- Fleming, J.M., Creevy, K.E. & Promislow, D.E.L. (2011). Mortality in North American Dogs from 1984 to 2004: An Investigation into Age-, Size-, and Breed-Related Causes of Death. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25 (2): 187-198.
- Frimberger, A.E. & Moore, A.S. (2017). Principles and Practice of Chemotherapy. In S.J. Ettinger & E.C., Feldman, *Textbook of veterinary internal medicine*. (8ª Edição ed., pp. 2037-2046). Missouri: Saunders Elsevier. Vol. 2.
- Gabe, C., Almeida, D.R. & Siqueira, L.O. (2009). Avaliação de eventos infecciosos oportunistas em crianças portadoras de leucemias. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 31 (2): 74-79.

- Ganesan, G. (2016). Eosinophilia as an important indicator of hookworm infection. *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 2 (3): 124-126.
- Gates, M. & Nolan, T. (2009). Endoparasite prevalence and recurrence across different ages groups of dogs and cats. *Veterinary Parasitology*, 166 (1-2): 153-158.
- Gorman, L. & Jeffrey, N. (2013). Intracavitary and intralesional chemotherapy in dogs and cats. *Veterinary Medicine*, 108 (3): 114, 116, 118-120.
- Gustafson, D.L. & Page, R.L. (2013). Cancer Chemotherapy. In Withrow, S., Vail, D., & Page, R. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Edição ed.). Elsevier Saunders Co.
- Hahn, K.A. (2002). *Veterinary Oncology*. Woburn: Butterworth: Heinemann.
- Helm, J. R., Morgan, E. R., Jackson, M. W., Wotton, P. & Bell, R. (2010). Canine angiostrongylosis: an emerging disease in Europe. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 20 (1): 98-109.
- Henry, C. & Higginbotham, M. (2010). *Cancer Management in Small Animal Practice*. Missouri: Saunders Elsevier Co.
- Henry, C.J., McCaw, D.L., Brock, K.V., Stoker, A.M., Tyler, J.W., Tate, D.J. & Higginbotham, M.L. (2001). Association between cancer chemotherapy and canine distemper virus, canine parvovirus, and rabies virus antibody titers in tumor-bearing dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 219 (9): 1238-1241.
- Instituto Nacional de Estatística (2013). Estatísticas territoriais. Acedido em Dez. 27, 2017, disponível em https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_unid_territorial&menuBOUI=13707095&contexto=ut&selTab=tab3
- Jeske, S., Bianchi, T.F., Moura, M.Q., Baccega, B., Pinto, N.B., Berne, M.E.A. & Villela, M.M. (2017). Intestinal parasites in cancer patients in the South of Brazil. *Brazilian Journal of Biology*. Acedido em Jan. 15, 2018, disponível em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-69842017005118105&lng=en&nrm=iso&tlng=en
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2008). O Trato Digestivo. In Junqueira, L.C. & Carneiro, J., *Histologia Básica* (11ª Edição, pp 283-316). Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- Karayannopoulou, M. & Lafioniatis, S. (2016). Recent advances on canine mammary cancer chemotherapy: a review of studies from 2000 to date. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 167 (7-8): 192-200.
- Kazemi, E., Tavalla, M., Maraghi, S. & Sharafkhani, R. (2014). Frequency of Intestinal Parasites Among Immunosuppressed Patients in Undergoing Chemotherapy in Khuzestan Province, Southwest Iran. *International Journal of Analytical, Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3 (4): 42-46.
- Lana, S., U'ren, L., Plaza, S., Elmslie, R., Gustafson, D., Morley, P. & Dow, S. (2007). Continuous low-dose oral chemotherapy for adjuvant therapy of splenic hemangiosarcoma in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21 (4): 764-769.

- Lana, S.E. & Dobson, J.M. (2011). Principles of Chemotherapy. In J.M. Dobson & B.D.X. Lascelles. *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3ª Edição ed., pp. 60-80). London: British Small Animal Veterinary Association.
- Lane, A.E., Black, M.L. & Wyatt, K.M. (2012). Toxicity and efficacy of a novel doxorubicin and carboplatin chemotherapy protocol for the treatment of canine appendicular osteosarcoma following limb amputation. *Australian Veterinary Journal*, 90 (3): 69-74.
- Leal, S.M.F. (2015). *Prevalência de Cryptosporidium spp. e de Giardia spp. em cães do distrito de Bragança, Portugal*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Lebre, F.L.M.C.R. (2011). *Rastreio de parasitas gastrintestinais e seu impacto zoonótico em cães de canil da cidade de Lisboa*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Lima, F.O.N. (2011). *Contribuição para o estudo da imunossupressão associada à quimioterapia, em cães*. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- London, C.A. (2009). Tyrosine kinase inhibitors in veterinary medicine. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24 (3): 106-112.
- London, C.A., Mathie, T., Stingle, N., Clifford, C., Haney, S., Klein, M.K., Beaver, L., Vickery, K., Vail, DM., Hershey, B., Ettinger, S., Vaughan, A., Alvarez, F., Hillman, L., Kiselow, M., Thamm, D., Higginbotham, M.L., Gauthier, M., Krick, E., Phillips, B., Ladue, T., Jones, P., Bryan, J., Gill, V., Novasad, A., Fulton, L., Carreras, J., McNeill, C., Henry, C. & Gillings, S. (2011). Preliminary evidence for biologic activity of toceranib phosphate (Palladia®) in solid tumours. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10 (3): 194-205.
- Lopez-Romero, G., Quintero, J., Astiazarán-García, H. & Velazquez, C. (2015). Host defences against *Giardia lamblia*. *Parasite Immunology*, 37 (8): 394-406.
- Madeira de Carvalho, L.M., Alho, A.M., Matos, M., Sousa, S., Miranda, L.M., Anastácio, S., Otero, D., Gomes, L., Nunes, T., Otranto, D., Belo, S. & Deplazes, P. (2013) Some emerging canine vector borne diseases and antiparasitic control measures in companion animals in Portugal—recent updates. XVIII Congreso de la Sociedad Española de Parasitología (SOCEPA), Las Palmas, Gran Canaria.
- Madeira de Carvalho, L.M., Carreira, M.C.P., Santos, S.G., Fonseca, I.M.P., Afonso-Roque, M.M. & Fazendeiro, M.I. (2005). Toxocarose/Larva Migrante Visceral – Um problema de Saúde Pública urbano? Situação epidemiológica na área da Grande Lisboa. Seminário “Infecções por Larvas de Helminths”. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa, 21 de Abril de 2005, 5 pp.
- Madeira de Carvalho, L.M., Fonseca, I.M.P., Gomes, L., Meireles, J.M. (2009) Lungworms in domestic and wild carnivores in Portugal: rare parasites or rarely diagnosed? ECVIM Congress, Bayer Angiostrongylosis Forum. Porto, Portugal, 9th September 2009. Comunicação oral a convite da organização. Abstract Proceedings, pp. 28.
- Manser, M., Granlund, M., Edwards, H., Saez, A., Petersen, E. & Chiodini, P. (2014). Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in clinical laboratories in Europe – a comparative study. *Clinical Microbiology and Infection*, 20 (1): 65-71.

- Mateus, T.L., Castro, A., Ribeiro, J.N. & Vieira-Pinto, M. (2014). Multiple Zoonotic Parasites Identified in Dog Feces Collected in Ponte de Lima, Portugal--A Potential Threat to Human Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11 (9): 9050-9067.
- Matos, M., Alho, A.M., Owen, S.P., Nunes, T. & Madeira de Carvalho, L. (2015). Parasite control practices and public perception of parasitic diseases: A survey of dog and cat owners. *Preventive Veterinary Medicine*, 122 (1-2): 174-180.
- Matsuyama, A., Poirier, V.J., Mantovani, F., Foster, R.A. & Mutsaers, A.J. (2017). Adjuvant Doxorubicin with or without Metronomic Cyclophosphamide for Canine Splenic Hemangiosarcoma. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 53 (6): 304-312.
- Melo, A.C.M.S. (2017). *Parasitoses gastrointestinais e pulmonares em canídeos e felídeos da Região Oeste de Portugal continental*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Menon, B.S., Abdullah, M.S., Mahamud, F. & Singh, B. (1999). Intestinal parasites in Malaysian children with cancer. *Journal of Tropical Pediatrics*, 45 (4): 241-242.
- Moeremans, I., Binst, D., Claerebout, E., Van de Maele, I. & S. Daminet (2011). Canine *Angiostrongylus vasorum*. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 80 (5): 319-326.
- Monte ACE Alentejo (2007). Caracterização da Região Alentejo Central Zona de Intervenção do Monte. Acedido em Dez. 27, 2017, disponível em http://www.monte-ace.pt/site/Caracterizacao_ZI.pdf
- Morgado, G.M. (2016). *Parasitoses internas e frequência de desparasitação em cães do concelho de Vila Franca de Xira, Portugal*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Morris, J. & Dobson, J. (Eds.). (2001). *Small animal oncology*. Oxford: Blackwell Science.
- Mutsaers, A.J. (2009). Metronomic Chemotherapy. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24 (3): 137-143.
- Nabais, J., Alho, A.M., Gomes, L., Silva, J.F., Nunes, T., Vicente, G. & Madeira de Carvalho, L.M. (2014). *Aelurostrongylus abstrusus* in cats and *Angiostrongylus vasorum* in dogs from Lisbon, Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 20 (1/2): 35-40.
- Nabais, P.M.M.D. (2008). *Controlo de Helminthoses Gastrointestinais em Cães*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Navari, R.M. & Apro, M. (2016). Antiemetic Prophylaxis for Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting. *The New England Journal of Medicine*, 374 (14): 1356-1367.
- Otero, D., Ferreira, A., Cruz, R., Alho, A. M., & Madeira de Carvalho, L.M. (2015). *Toxocara spp.*: a lombriga de estimação dos carnívoros domésticos e silvestres em Portugal. *Clínica Animal*, 35 (3): 30-35.
- Otero, D., Nijse, R., Gomes, L., Alho, A., Overgaauw, P., Hoek, D. & Madeira de Carvalho, L.M. (2014). Prevalência de ovos de *Toxocara spp.* no solo de parques públicos da área da Grande Lisboa, Portugal – Resultados Preliminares. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 20 (1/2): 47-50.
- Owen, S.P. (2017). *The First Epidemiological Study on the Prevalence of Cardiopulmonary and Gastrointestinal Parasites in Cats and Dogs from the Algarve Region of Portugal using the*

FLOTAC Technique. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.

- Pacheco, F.T. F., Silva, R.K.N.R., Mendes, A.V.A., Mendonça, N., Ribeiro, T.C.M., Soares, N.M. & Teixeira, M.C.A. (2014). Infecção por *Giardia duodenalis* e outros enteroparasitos em crianças com câncer e crianças de creche em Salvador, Bahia. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 13 (3): 280-286.
- Peregrine, A. (2014). *Roundworms in small animals*. Acedido em Jun. 1, 2017, disponível em: <http://www.merckvetmanual.com/digestive-system/gastrointestinal-parasites-of-small-animals/roundworms-in-small-animals>
- Pereira, A.R. (2003). Geografia Física e Ambiente. *Atlas da Área Metropolitana de Lisboa*. Acedido em Dez. 27, 2017, disponível em http://www.urv.cat/dgeo/media/upload/arxiu/Lisboa/04_geografia_fisica.pdf
- Pitaes, A., Nunes, T., Fernandes, A. & Madeira de Carvalho, L.M. (2015). Papel do parasitismo por *Giardia* sp. em sistemas de produção canina - Resultados em canis de criação na região de Viseu, Portugal. *Veterinary Medicine*, 17 (98): 29-36.
- Ramsey, I. (2014). *BSAVA Small Animal Formulary* (8ª Edição ed.). Quedgeley, Gloucs, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Rau, S.E., Barber, L.G. & Burgess, K.E. (2010). Efficacy of Maropitant in the Prevention of Delayed Vomiting Associated with Administration of Doxorubicin to Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24 (6): 1452-1457.
- Robat, C., London, C. Bunting, L., McCartan, L., Stingle, N., Selting, K., Kurzman, I. & Vail, D.M. (2011). Safety evaluation of combination vinblastine and toceranib phosphate (Palladia®) in dogs: a phase I dose-finding study. *Veterinary and Comparative Oncology*, 10 (3): 174-183.
- Rudrapatna, J., Kumar, V. & Sridhar, H. (1997). Intestinal Parasitic Infections in Patients with Malignancy. *Journal of Diarrhoeal Diseases Research*, 15 (2): 71-74.
- Sabattini, S., Scarpa, F., Berlato, D. & Bettini, G. (2015). Histologic Grading of Canine Mast Cell Tumor: Is 2 Better Than 3? *Veterinary Pathology*, 52 (1): 70-73.
- Sanad, M.M., Thagfan, F.A., Al Olayan, E.M., Almogren, A., Al Hammaad, A., Al-Mawash, A. & Mohamed, A.A. (2014). Opportunistic Coccidian Parasites among Saudi Cancer Patients Presenting with Diarrhea: Prevalence and Immune Status. *Research Journal of Parasitology*, 9 (2): 55-63.
- Santos, J.P.G.A.B. (2014). *Estudo observacional transversal de parasitas em cães errantes no concelho de Vila Franca de Xira, Portugal*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Schmidt, J. (2013). Metronomic Chemotherapy. *European School for Advanced Veterinary Studies Oncology I course*. Luxembourg, Luxembourg.
- Schnyder, M., Maurelli, M.P., Morgoglione, M.E., Kohler, L., Deplazes, P., Torgerson, P., Cringoli, G. & Rinaldi, L. (2011). Comparison of faecal techniques including FLOTAC for copromicroscopic detection of first stage larvae of *Angiostrongylus vasorum*. *Parasitology Research*, 109 (1): 63-69.

- Silva, L.P., Silva, R.M.G., Fernandes, N.A. & Oliveira, J.A.A. (2011). Parasitos e comensais intestinais em pacientes neoplásicos submetidos à quimioterapia. *Bioscience Journal*, 27 (1): 170-177.
- Silveira, P.S.D. (2016). *Efeitos secundários da quimioterapia antineoplásica e seu impacto na qualidade de vida em cães e gatos com doença oncológica*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Smith, A. (2017). How I Treat Mammary Carcinoma. *Today's Veterinary Practice*, 7 (3):106-108. Acedido em Jan. 10, 2018, disponível em <http://todaysveterinarypractice.navc.com/treat-mammary-carcinoma-interview-dr-annette-smith/>
- Smith, A.F., Semeniuk, C.A., Kutz, S.J. & Massolo, A. (2014). Dog-walking behaviours affect gastrointestinal parasitism in park-attending dogs. *Parasites & Vectors*, 7 (1): 429.
- Sun, F., Zhu, J., Lu, S., Zhen, Z., Wang, J., Huang, J., Ding, Z., Zeng, M. & Sun, X. (2018). An inflammation-based cumulative prognostic score system with diffuse large B cell lymphoma in rituximab era. *BMC Cancer*, 18 (1): 1-8.
- Tangtrongsup, S. & Scorza, V. (2010). Update on the Diagnostic and Management of *Giardia* spp. Infections in Dogs and Cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25 (3): 155-162.
- Teixeira, T.F., Gentile, L.B., Roman, M.A.L., Gioso, M.A. & Dagli, M.L.Z. (2015). c-Kit immunoexpression patterns differ in melanotic and amelanotic canine oral melanomas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 52 (4): 333-341.
- Thamm, D.H. & Vail, D.M. (2007). Aftershocks of cancer chemotherapy: managing adverse effects. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 43 (1): 1-7.
- Thienpont, D., Rochette, F. & Vanparijs, O.F.J. (1986). *Diagnóstico de las helmintiasis por medio del examen coprológico* (2ª Edição ed.). Beerse, Bélgica: Janssen Research Foundation.
- Tizard, I.R. (2013). *Veterinary Immunology* (9ª Edição ed.). Missouri: Saunders Elsevier Co.
- Tvedten, H. & Raskin, R.E. (2012). Leukocyte Disorders. In Willard, M.D. & Tvedten, H.. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods* (5ª Edição ed.). Missouri: Saunders Elsevier.
- Undevia, S., Gomez-Abuin, G. & Ratain, M. (2005). Pharmacokinetic variability of anticancer agentes. *Nature Reviews Cancer*, 5 (6): 447-458.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W. (1996). *Veterinary Parasitology* (2ª Edição ed.). Oxford: Blackwell Science.
- Uysal, S., Öztürk, E.A., Tunali, V., Uysal, A., Ünver, A., Saydam, G., Tasbakan, M.I., Pullukçu, H., Turgay, N. & Arda, B. (2017). Intestinal parasitic infectons in patients leukemic patients with diarrhea. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 7 (2): 63-66.
- Vail, D.M. (2009). Supporting the Veterinary Cancer Patient on Chemotherapy: Neutropenia and Gastrointestinal Toxicity. *Topics in Companion Animal Medicine*, 24 (3): 122-129.
- Vail, D.M. (2010). Cytotoxic chemotherapeutic agentes. *NAVCClinician's Brief*, 8 (4): 18-22.
- Vail, D.M. (2017). Hematopoietic Tumors. In S.J. Ettinger & E.C., Feldman, *Textbook of veterinary internal medicine*. (8ª Edição ed., pp. 2037-2046). Missouri: Sauders Elsevier. Vol. 2.

- Vail, D.M., Pinkerton, M.E. & Young, K.M. (2013). Hematopoietic Tumors. In Withrow, S., Vail, D., & Page, R. *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Edição ed.). Elsevier Saunders Co.
- Walter, C.U., Biller, B.J., Lana, S.E., Bachand, A.M. & Dow, S.W. (2006). Effects of Chemotherapy on Immune Responses in Dogs with Cancer. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20 (2): 342-347.
- Wilson, H. & Barton, C. (2012). *Small Animal Clinical Pharmacology & Therapeutics*. (2ª Edição ed., pp. 1210-1235). Missouri: Saunders Elsevier.
- Winnicka, A., Jagielski, D., Hoffmann-Jagielska, M. & Lechowski, R. (2002). Cytometric Evaluation of Peripheral Blood Lymphocytes in Dogs with Lymphoma during Chemotherapy. *Journal of Veterinary Medicine*, 49 (6): 303-306.
- Withrow, S., Vail, D. & Page, R. (2013). *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5ª Edição ed.). Elsevier Saunders Co.
- Zajac, A.M. & Conboy, G.A. (2012). *Veterinary Clinical Parasitology* (8ª Edição ed.). Chichester, West Sussex, UK: Willey-Blackwell.
- Zandvliet, M. (2016). Canine lymphoma: a review. *Veterinary Quarterly*, 36 (2): 76-104.
- Zembower, T. (2014). Epidemiology of Infections in Cancer Patients. In Stoso, V. & Zembower, T.R., *Infectious Complications in Cancer Patients*. (eds, pp. 43-89). Springer International Publishing Switzerland.

Anexo 1



Inquérito aos proprietários para Dissertação de MIMV da FMV-UL

João Lory Costa

Cão



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



Todos os dados recolhidos neste inquérito são confidenciais e anónimos e serão tratados como um todo apenas no contexto deste estudo.

Nome do Animal: _____ Nome do Tutor: _____

Raça: _____ Idade: __ anos Sexo: Macho ☐ Fêmea ☐ Estado: Inteiro ☐ Esterilizado ☐

Tipo de Alimentação:

Ração ou enlatado comercial ☐
Dieta caseira cozinhada ☐
Alimentos crus ☐
Outro: _____

O seu cão vive maioritariamente:

Dentro de casa ☐
Fora de casa ☐
(quintal/ canil)

Tem outros animais em casa?

Cão Sim ☐ Não ☐
Gato Sim ☐ Não ☐
Outro: _____ Sim ☐ Não ☐

O seu cão passeia na rua? Sim ☐ Não ☐

Se respondeu Sim, responda às três questões seguintes referentes aos passeios.

Com que frequência faz os passeios?

Diariamente ☐
Semanalmente ☐
Raramente ☐
Nunca ☐
Outro: _____

Locais em que passeia?

Espaços urbanos (rua/ passeio) ☐
Espaços verdes (parque/ jardim) ☐
Outros: _____

Nestes passeios, o seu cão contacta com outros animais?

Frequentemente ☐
Raramente ☐
Nunca ☐
Não sei ☐

O seu cão já teve parasitas?

Internos (lombrigas e ténias) ☐ Ambos ☐ Não sei ☐
Externos (pulgas e carraças) ☐ Não ☐

Faz prevenção para parasitas internos? Sim ☐ Não ☐

Faz prevenção para parasitas externos? Sim ☐ Não ☐

Se sim, qual o produto que usa?

Advocate ☐ Caniquantel plus ☐ Dosalid ☐ Drontal plus ☐
Drontal puppy ☐ Endogard ☐ Guardian ☐ Heartgard ☐
Leishgard ☐ Milbemax ☐ Nexgard Spectra ☐ Procox ☐
Panacur ☐ Profender ☐ Program Plus ☐ Strongid cães ☐
Stronghold ☐ Telmin ☐ Vitaminthe ☐ Outro: _____

Se sim, qual o produto que usa?

Activyl ☐ Activyl tick plus ☐ Advantage ☐ Advantix ☐
Advocate ☐ Capstar ☐ Comfortis ☐ Bravecto ☐
Broadline ☐ Eliminal ☐ Effipro ☐ Effitix ☐ Midaspot ☐
Nexgard ☐ Program Plus ☐ Scalibor ☐ Seresto ☐
Stronghold ☐ Vectra ☐ Outro: _____

E com que frequência o utiliza?

Mensal ☐ Trimestral ☐ Quadrimestral ☐ Anual ☐
Outro: _____

E com que frequência o utiliza?

Mensal ☐ Trimestral ☐ Sazonal ☐ Anual ☐
Outro: _____

Se tiver outros animais em casa, é-lhes aplicada:

Desparasitação interna

Cão Sim ☐ Não ☐ Gato Sim ☐ Não ☐ Outro Sim ☐ Não ☐

Desparasitação externa

Cão Sim ☐ Não ☐ Gato Sim ☐ Não ☐ Outro Sim ☐ Não ☐

No momento da colheita da amostra fecal, o seu animal apresentou algum dos seguintes sintomas?

Anorexia ☐
Diarreia ☐
Vómito ☐

Tosse ☐
Assintomático ☐
Outro(s): _____

Já foi diagnosticado algum tumor prévio ao seu animal? Sim ☐ Não ☐ Se Sim, indique qual: _____



Inquérito aos proprietários para Dissertação de MIMV da FMV-UL

João Lory Costa

CÃO



UNIVERSIDADE DE LISBOA



Todos os dados recolhidos neste inquérito são confidenciais e anónimos e serão tratados como um todo apenas no contexto deste estudo.

Nome do Animal: _____ Nome do Tutor: _____

Raça: _____ Idade: __ anos Sexo: Macho ☐ Fêmea ☐ Estado: Inteiro ☐ Esterilizado ☐

Tipo de Alimentação:

Ração ou enlatado comercial ☐
Dieta caseira cozinhada ☐
Alimentos crus ☐
Outro: _____

O seu cão vive maioritariamente:

Dentro de casa ☐
Fora de casa ☐
(quintal/ canil)

Tem outros animais em casa?

Cão Sim ☐ Não ☐
Gato Sim ☐ Não ☐
Outro: _____ Sim ☐ Não ☐

O seu cão passeia na rua? Sim ☐ Não ☐

Se respondeu Sim, responda às três questões seguintes referentes aos passeios.

Com que frequência faz os passeios?

Diariamente ☐
Semanalmente ☐
Raramente ☐
Nunca ☐
Outro: _____

Locais em que passeia?

Espaços urbanos ☐
(rua/ passeio)
Espaços verdes ☐
(parque/ jardim)
Outros: _____

Nestes passeios, o seu cão contacta com outros animais?

Frequentemente ☐
Raramente ☐
Nunca ☐
Não sei ☐

O seu cão já teve parasitas?

Internos (lombrigas e ténias) ☐ Ambos ☐ Não sei ☐
Externos (pugas e carraças) ☐ Não ☐

Faz prevenção para parasitas internos? Sim ☐ Não ☐

Se sim, qual o produto que usa?

Advocate ☐ Caniquantel plus ☐ Dosalid ☐ Drontal plus ☐
Drontal puppy ☐ Endogard ☐ Guardian ☐ Heartgard ☐
Leishgard ☐ Milbemax ☐ Nexgard Spectra ☐ Procox ☐
Panacur ☐ Profender ☐ Program Plus ☐ Strongid cães ☐
Stronghold ☐ Telmin ☐ Vitaminthe ☐ Outro: _____

E com que frequência o utiliza?

Mensal ☐ Trimestral ☐ Quadrimestral ☐ Anual ☐
Outro: _____

Faz prevenção para parasitas externos? Sim ☐ Não ☐

Se sim, qual o produto que usa?

Activyl ☐ Activyl tick plus ☐ Advantage ☐ Advantix ☐
Advocate ☐ Capstar ☐ Comfortis ☐ Bravecto ☐
Broadline ☐ Eliminal ☐ Effipro ☐ Effitix ☐ Midaspot ☐
Nexgard ☐ Program Plus ☐ Scalibor ☐ Seresto ☐
Stronghold ☐ Vectra ☐ Outro: _____

E com que frequência o utiliza?

Mensal ☐ Trimestral ☐ Sazonal ☐ Anual ☐
Outro: _____

Se tiver outros animais em casa, é-lhes aplicada:

Desparasitação interna

Desparasitação externa

Cão

Sim ☐ Não ☐

Sim ☐ Não ☐

Gato

Sim ☐ Não ☐

Sim ☐ Não ☐

Outro

Sim ☐ Não ☐

Sim ☐ Não ☐

No momento da colheita da amostra fecal, o seu animal apresentou algum dos seguintes sintomas?

Anorexia ☐
Diarreia ☐
Vómito ☐

Tosse ☐
Assintomático ☐
Outro(s): _____

Já foi diagnosticado algum tumor prévio ao seu animal? Sim ☐ Não ☐ Se Sim, indique qual: _____

Anexo 2

Dados do estudo referentes ao número de amostra (NA), tipos de neoplasia e protocolo associado, grupo em que cada NA foi inserido e intervalo entre colheitas (IC), quando aplicável.

NA	Neoplasia	Protocolo	Grupo	IC
1	Carcinoma de células de transição	Carboplatina IV + AINEs PO	I e II	57
2	Melanoma oral	Carboplatina IV + AINEs PO	I e II	39
3	Carcinoma broncoalveolar	Toceranib PO + AINEs PO	I e II	211
4	Adenocarcinoma nasal	Carboplatina IV + AINEs PO	I e II	40
5	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	I e II	20
6	Hemangiossarcoma nasal	Doxorrubicina IV + AINEs PO	I e II	46
7	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	I e II	40
8	Osteossarcoma	Carboplatina IV	I e II	53
9	Melanoma oral	Carboplatina IV + AINEs PO	I e II	71
10	Linfoma multicêntrico	L-CHOP IV	I e II	40
11	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	I e II	52
12	Osteossarcoma	Carboplatina IV + AINEs PO	I e II	44
13	Carcinoma mamário	Carboplatina IV + AINEs PO	I e II	50
14	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	I e II	47
15	Carcinoma dos sacos anais	Toceranib PO	I e II	24
16	Osteossarcoma	Carboplatina IV + AINEs PO	I e II	67
17	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	I e II	54
18	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	I e II	61
19	Carcinoma dos sacos anais	Carboplatina IV + AINEs PO	I e II	85
20	Carcinoma de células de transição	Carboplatina Intravesical + AINEs PO	I e II	90
21	Mastocitoma	Vimblastina IV + Prednisolona PO + Toceranib PO	I e II	69
22	Mastocitoma	Vimblastina IV + Prednisolona PO + Toceranib PO	I e II	47
23	Mastocitoma	Vimblastina IV + Prednisolona PO + Toceranib PO	I e II	62
24	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	I e II	59
25	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	I e II	55
26	Mastocitoma	Vimblastina IV + Prednisolona PO + Toceranib PO	I e II	68
27	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	I e II	34
28	Hemangiossarcoma esplênico	Doxorrubicina IV + Ciclofosfamida PO + AINEs PO	I e II	77
39	Linfoma hepático	L-CHOP IV (lomustina)	I e II	54
30	Mastocitoma	Vimblastina IV + Prednisolona PO	I e II	54
31	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	II	-
32	Carcinoma hepático	Ciclofosfamida PO + AINEs PO	II	-
33	Quemodectoma	Toceranib PO + AINEs PO	II	-
34	Carcinoma de células escamosas	Toceranib PO + AINEs PO	II	-
35	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	II	-
36	Carcinoma mamário	Carboplatina IV + AINEs PO	II	-
37	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	II	-
38	Mastocitoma	Vimblastina IV	II	-
39	Carcinoma nasal anaplásico	Toceranib PO + AINEs PO	II	-
40	Hemangiossarcoma esplênico	Ciclofosfamida PO + AINEs PO	II	-
41	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	II	-
42	Linfoma multicêntrico	CHOP IV	II	-
43	Mastocitoma	Vimblastina IV + Prednisolona PO	II	-
44	Neoplasia nasal	Carboplatina IV + Doxorrubicina IV + AINEs PO	II	-
45	Neoplasia nasal	Carboplatina IV + Doxorrubicina IV + AINEs PO	II	-

Anexo 3

A QUIMIOTERAPIA ONCOLÓGICA E OS SEUS EFEITOS NO PARASITISMO GASTROINTESTINAL DO CÃO*



João Lory Costa^{1**}, Ana Margarida Alho¹, Lídia Gomes¹, Ana Eiras², Telmo Nunes¹,
Gonçalo Vicente³, Patrícia Lopes², Luís Madeira de Carvalho¹



¹CIISA – Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa. ²Hospital Veterinário do Restelo. ³Hospital Escolar Veterinário, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa. **Autor correspondente: joao_lorycosta@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Em medicina veterinária, a crescente incidência de **doenças neoplásicas**¹ tem sido acompanhada por um aumento da utilização de **agentes quimioterápicos**, frequentemente associados a infecções oportunistas. Tendo por base estudos de medicina humana que indicam um risco acrescido de **parasitoses gastrointestinais oportunistas** em pacientes sob regime de quimioterapia²⁻⁹, surgiu a ideia da presente investigação aplicada aos cães como pacientes oncológicos.



Fig. 1 – Sessão de quimioterapia convencional. Fig. 2 e 3 – Análise laboratorial parasitológica.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho consistiu em determinar a prevalência de parasitas gastrointestinais em **cães submetidos a quimioterapia**, avaliar a sua evolução ao longo do protocolo, e estudar os potenciais efeitos da quimioterapia no seu parasitismo.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas **75 amostras coprológicas** de **45 canídeos** a realizar diferentes protocolos quimioterápicos (Fig. 1). As amostras foram divididas em dois grupos, G1 e G2. No **G1** foram analisadas amostras coprológicas, de 30 canídeos, em dois momentos, totalizando 60 amostras (30 antes de iniciar o protocolo quimioterápico + 30 durante o mesmo). No **G2** foram analisadas 45 amostras, de 45 canídeos, apenas no momento da quimioterapia (30 pertencentes a G1 + 15 sem colheita prévia). O intervalo entre colheitas respeitou os períodos pré-patentes dos parasitas gastrointestinais mais expectáveis de encontrar. Para a análise laboratorial foram realizadas técnicas de **flutuação de Willis**, **sedimentação natural**, **técnica de Baermann** e **esfregaço fecal com coloração de Ziehl-Neelsen** (Fig. 2 e 3). As amostras foram colhidas no **Hospital Veterinário do Restelo** e no **Hospital Escolar Veterinário** da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, entre novembro de 2016 e setembro de 2017. Foram também realizados **inquéritos** aos tutores para caracterizar o estilo de vida dos seus cães e os cuidados de desparasitação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos dois grupos, houve duas amostras positivas para o protozoário *Giardia sp.*, das quais uma tinha em associação ovos do nemátode *Toxascaris leonina* (Fig. 4 e 5). Os dois animais apenas obtiveram resultados laboratoriais positivos no **momento da colheita durante a quimioterapia**, tendo apresentado **resultados anteriores negativos**. Foi, assim, obtida uma **prevalência de parasitoses gastrointestinais de 3,3% no G1 e 4,4% no G2**.

Para cada canídeo, foram avaliados fatores de risco para infecção parasitária como **habitação, tipo de alimentação, frequência e hábitos de passeio e cuidados veterinários**. Estes fatores revelaram-se **concordantes** com outros estudos realizados em **cães saudáveis** na mesma região^{10,11}. Relativamente aos **cuidados de desparasitação**, a **desparasitação interna** era realizada regularmente por **70% dos tutores no G1 e 66,7% no G2**. As **especialidades terapêuticas** mais frequentemente utilizadas foram uma associação de **praziquantel-pirantel-febantel** e uma associação de **praziquantel-febendazol**. A **frequência de desparasitação** mais utilizada em ambos os grupos foi o regime **quadrimestral** (Fig. 6).

Apenas um dos canídeos com amostra coprológica positiva manifestou diarreia no momento da colheita; as manifestações clínicas dos restantes animais foram atribuídas à toxicidade gastrointestinal, inerente aos diversos protocolos quimioterápicos, bem como aos processos oncológicos em si (Fig. 7).

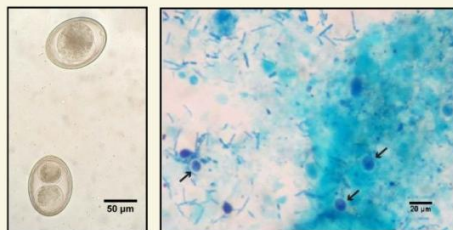


Fig. 4 – Ovos de *Toxascaris leonina*.

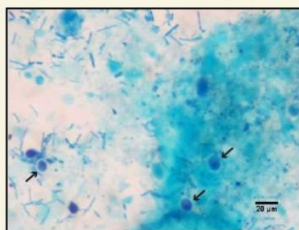


Fig. 5 – Quistos de *Giardia sp.*

Frequência de Desparasitação Interna

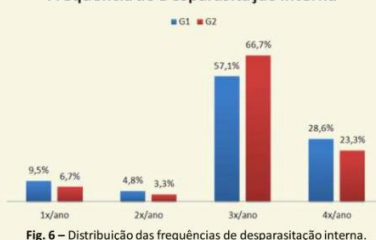


Fig. 6 – Distribuição das frequências de desparasitação interna.

Sinal Clínico	G1	G2
Anorexia	10%	11,1%
Diarreia	10%	11,1%
Fezes moles	6,7%	6,7%
Fezes com sangue	0%	4,4%
Tosse	6,7%	4,4%
Vômito	3,3%	6,7%

Fig. 7 – Distribuição dos sinais clínicos.

CONCLUSÃO

A **baixa prevalência parasitária** da amostra inicial e final não permitiu observar uma associação entre a utilização de agentes quimioterápicos e infecções por parasitas gastrointestinais. Contudo, concluiu-se que a amostra populacional estudada demonstrou estar **eficientemente desparasitada**, além de **não ter sofrido alterações evidentes na sua componente parasitológica e no seu modo de vida**.

REFERÊNCIAS

- ¹Fleming, J.M., Creevy, K.E. & Promislow, D.E.L. (2011). Mortality in North American Dogs from 1984 to 2004: An Investigation into Age-, Size-, and Breed-Related Causes of Death. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25 (2): 187-198.
- ²Berhmat, R., Mahami-Oskoue, M., Rezamand, A., Spotin, A., Amirsani, N., Ghoyouchini, R. & Madadi, S. (2017). Cryptosporidium infection in children with cancer undergoing chemotherapy: how important is the prevention of opportunistic parasitic infections in patients with malignancies? *Parasitology Research*, 116 (9): 2507-2515.
- ³Jeske, S., Bianchi, T.F., Moura, M.Q., Baccaga, B., Pinto, N.B., Berne, M.E.A. & Villela, M.M. (2017). Intestinal parasites in cancer patients in the South of Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 77 (1): 170-177.
- ⁴Yusuf, S., Öztürk, E.A., Tunali, V., Uysal, A., Ünec, A., Saydam, G., Tasbakan, M.I., Pullukcu, H., Turgun, N. & Arda, B. (2017). Intestinal parasitic infections in patients with leukemia. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 7 (12): 63-66.
- ⁵Morgado, G.M. (2016). *Parasitoses internas e frequência de desparasitação em cães do concelho de Vila Franca de Xira, Portugal*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- ⁶Matos, M., Alho, A.M., Owen, S.P., Nunes, T. & Madeira de Carvalho, L. (2015). Parasite control practices and public perception of parasitic diseases: A survey of dog and cat owners. *Preventive Veterinary Medicine*, 122 (1-2): 174-180.